

Ф. ФОГЕЛЬ, А. МОТУЛЬСКИ

# Генетика человека

---

1

История

Хромосомы человека

Формальная генетика

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»









## Генетика человека

F. Vogel, A. G. Motulsky

# Human Genetics

Problems and Approaches

Second, Completely Revised Edition  
With 447 Figures and 217 Tables

Ф. ФОГЕЛЬ  
А. МОТУЛЬСКИ

# Генетика человека

---

Проблемы и подходы

В 3-х томах

ТОМ 1

Перевод с английского  
канд. биол. наук Т. Ю. Переслени,  
канд. биол. наук С. В. Агеева,  
канд. мед. наук К. Н. Гринберга

под редакцией  
д-ра биол. наук Ю. П. Алтухова  
и д-ра биол. наук В. М. Гиндилиса



МОСКВА «МИР» 1989

ББК 28.04  
Ф 74  
УДК 575

**Фогель Ф., Мотульски А.**

Ф74 Генетика человека: В 3-х т. Т. I: Пер. с англ. — М.:  
Мир. 1989. — 312 с., ил.  
ISBN 5-03-000287-1

Книга двух известных генетиков из ФРГ и США является фундаментальным учебником по генетике человека, охватывающим практически все основные направления этой области науки. Она может служить как учебным пособием для начинающих изучать генетику человека, так и справочным изданием для специалистов.

Том I посвящен истории генетики человека, вопросам пилотгенетики и формальной генетики человека.

Для генетиков, молекулярных биологов, антропологов, врачей, а также для студентов-медиков и биологов.

1908000000 — 153  
Ф ————— 106 — 88, ч. 1  
041 (01) — 89

**ББК 28.04**

*Редакция литературы по биологии*

ISBN 5-03-000287-1 (русск.)  
ISBN 5-03-000286-3  
ISBN 3-540-16411-1 (англ.)

© Springer-Verlag Berlin, Heidelberg 1979, 1982,  
1986.

All Rights Reserved.

Authorized translation from English language  
edition published by Springer-Verlag Berlin  
Heidelberg New York Tokyo

© перевод на русский язык, «Мир», 1989

# Предисловие редакторов перевода

Предлагаемое вниманию биологов и врачей фундаментальное руководство по генетике человека – результат совместного труда двух широко известных специалистов в этой области – Ф. Фогеля (ФРГ) и А. Мотульски (США). По полноте охвата проблематики книга не имеет себе равных: в ней отражены практически все основные направления современной генетики человека, включая такой развитый ее раздел как медицинская (клиническая) генетика. Русский перевод книги сделан со 2-го издания, появившегося спустя всего лишь пять лет после выхода первого, – факт, бесспорно, знаменательный. Столь быстрое переиздание по сути энциклопедического руководства, к тому же существенно дополненного самыми последними материалами по молекулярной генетике, есть свидетельство успеха и несомненной продуктивности авторского союза: первые итоги исключительно бурного развития новейшей генетики человека были критически осмыслены и обобщены в весьма сжатые сроки.

Полезно напомнить, что ставшие уже широко известными достижения этой науки отражают общий прогресс современной молекулярной биологии и генетики. К настоящему моменту довольно подробно изучено более 1000 генов человека, для большинства из них установлена локализация в конкретных районах определенных хромосом, для многих раскрыты специфические механизмы участия в развитии тех или иных форм наследственной патологии. Для некоторых генетических дефектов разработаны надежные методы ранней диагностики, широко применяемые с целью первичной профилактики тяжелых наследственных болезней. К сожалению, ни одно из этих впечатляющих достижений

последнего десятилетия не было результатом усилий советских ученых.

В основе такого отставания лежат многие причины, и по крайней мере одна из них стала теперь широко известной даже неспециалистам. Длительный период господства в отечественной биологии печально известной «лысенковщины» (с конца 30-х и до середины 60-х гг.) не мог не иметь долговременных тяжелых последствий; особенно неблагоприятна ситуация в генетике человека.

Исторически сложилось так, что в странах Запада генетика человека развивалась как целостная научная дисциплина, в рамках которой и генетика нормы, и генетика патологии шли рука об руку, взаимно обогащая друг друга идеями, методами и результатами. У нас же по разным причинам возникла заметная асимметрия: преимущественное внимание уделялось собственно медицинской генетике, а генетика здорового человека оставалась в тени. И именно на этом направлении неблагоприятный разрыв между современным уровнем отечественной академической науки и мировыми достижениями последних лет стал особенно очевидным. Перед лицом глобальных проблем, порожденных развитием человеческой цивилизации, известный призыв древних «познай себя» звучит сегодня как никогда актуально. Генетика человека должна ответить на многочисленные вопросы, касающиеся генетических последствий загрязнения окружающей среды, смещения генофондов ранее изолированных популяций. Необходима строгая научная оценка соотношения социального и биологического в становлении и развитии человека.

Очень важно, что все эти вопросы анализируются в предлагаемой читателю

книге, причем делается это весьма скрупулезно и с полным осознанием ответственности за интерпретацию.

Разумеется, такого рода оценки и прогнозы не окончательны. Напротив, с нашей точки зрения, они спорны. Читатель может не принимать авторские трактовки. Но он должен быть признателен за постановку всех острых вопросов генетики человека и ясное изложение авторских позиций.

Мы надеемся, что публикация издательством «Мир» книги Фогеля и Мотульски в значительной мере заполнит пробел в

наших знаниях и представлениях о состоянии современной генетики человека, послужит стимулом к дальнейшему развитию в нашей стране жизненно необходимых работ по углубленному изучению наследственности человека в норме и при патологии, окажется полезной широкому кругу биологов и генетиков, а также врачей и студентов медицинских и биологических вузов.

*Ю. П. Алтухов  
В. М. Гиндилис*

## Предисловие ко второму изданию

Первое издание этой книги, вышедшее в 1979 г. было хорошо принято научной общественностью. Со времени его написания в области генетики человека появились новые идеи и новые открытия главным образом благодаря использованию методов молекулярной биологии: картировано более 700 генов, исследована структура некодирующих последовательностей ДНК, в практику медицинской генетики быстрыми темпами стала входить ДНК-диагностика. Все это необходимо было учесть при подготовке второго издания.

Книга значительно переработана. В нее введен новый важный раздел, посвященный структуре генов и хромосом на молекулярном уровне, рассматриваются теоретические и практические вопросы использования методов исследования ДНК (например, при гемоглобинопатиях и некоторых других заболеваниях). В книге много новых рисунков и таблиц.

Мы получили немало доброжелательных, а иногда даже лестных отзывов на первое издание. В них часто выражалось сожаление по поводу того, что в книге недостаточно внимания уделено практическим аспектам клинической генетики. Мы учли эти замечания и во второе издание включили больше материала, представляющего интерес для клиницистов. Значительно расширена глава, посвященная генетической консультации и пренатальной диагностике. Однако возросший объем данных по генетике человека делает невозможным рассмотрение всех наследственных заболеваний и их клинических проявлений. Этим вопросам посвящены многие из недавно опубликованных книг и руководств, указанных в расширенном перечне цитированной литературы. Целью нашей книги остается изложение на сов-

ременном уровне концепций, фактов и проблем, лежащих в основе теории и практики генетики человека и медицинской генетики.

Многие коллеги оказали нам помощь при подготовке этого издания. Среди них В. Бусельмайер, Т. Кремер, С. Гартлер, Э. Жиблетт, Д. Гетц, В. Найфельд, П. Пропинг, Т. М. Шредер, К. Шперлинг, В. Зиберт и Р. Штерн. Они не несут никакой ответственности за ошибки, которые могли вкратиться в текст. Чрезвычайно полезной оказалась помощь Дж. Крюгера в вопросах статистики. По его совету вместо старомодных карандаша и бумаги мы использовали компьютер. Наши секретари Адельхейд Фенглер в Гейдельберге, Ингрид Рудольф в Западном Берлине и Сильвия Ваггонер в Ситле напечатали новые разделы рукописи и успешно справились с трудной задачей приведения громадной рукописи в порядок. Новые рисунки были выполнены Эддой Шолт.

Основная часть материала этого издания была подготовлена в 1984–1985 гг. в период нашей совместной работы в Институте современных исследований (Wissenschaftskolleg) в Западном Берлине. Пребывание А. Г. Мотульски в Западном Берлине было частично оплачено премией Александра фон Гумбольдта.

Мы надеемся, что второе издание, так же как и первое, решит поставленную задачу и даст необходимые представления об основных положениях генетики человека всем, кто интересуется этой увлекательной наукой.

Весна 1986 года

*Фридрих Фогель  
Арно Г. Мотульски*

# Предисловие к первому изданию

Генетика человека – основа биологии *Homo sapiens*. Это бурно развивающееся научное направление. Большой интерес к нему возник в 50-е годы. Он был вызван новыми представлениями о биохимической природе наследственности и развитием цитогенетики человека. С тех пор число научных работников, посвятивших себя изучению генетики человека и медицинской генетики, все время росло, а это, в свою очередь, привело к значительному увеличению объема знаний. С генетическими проблемами сталкиваются многие ученые и врачи. Для их решения применяют методы, разработанные в различных областях биологии, химии, медицины и статистики. Правильно сформулированные и красиво решенные задачи помогают разобраться в широком круге теоретических проблем генетики. Разработка теоретических положений в свою очередь позволяет найти ответы на новые практические вопросы. Приведем только один пример: структура глобиновых генов была выяснена с помощью методов, применяющихся в белковой химии и при изучении ДНК.

Успехи в генетике человека имеют практическое значение для благополучия людей. Расширение знаний о наследственных причинах болезней помогает улучшить их диагностику, найти новые терапевтические подходы и, более того, предотвратить их возникновение. До сих пор генетика человека не оказывала большого влияния на общественные науки и науку о поведении человека. Не исключено, что роль генетических факторов в формировании личности, интеллектуальных способностей, а возможно, и в поведении человека так же велика, как и их роль в его здоровье или нездоровье. Однако такого рода данные не однозначны и противоречивы. Они детально рассматри-

ваются в этой книге. Бурное развитие исследований по генетике человека в последние десятилетия уже привлекло и продолжает привлекать все большее число студентов и ученых из других областей науки. Обычно источниками информации по генетике человека служат разнообразные брошюры, посвященные конкретным вопросам, монографии по различным направлениям этой науки и оригинальные статьи в журналах. Однако, как нам кажется, необходим достаточно подробный и современный учебник, где рассматривались бы основные положения генетики человека и их практическое использование. Ведь отсутствие общих основополагающих представлений в какой-либо области часто приводит к ошибочному пониманию ее предмета, непониманию целей исследования, неправильному выбору методов, к ожесточенным теоретическим дискуссиям. Генетика человека имеет в своей основе мощную теорию, и ее надо изложить относительно просто. Именно эту цель мы и преследовали в данной книге. Возможно, читатели сочтут ее слишком смелой и трудно реализуемой. Однако мы оба работали в области генетики человека более 25 лет, занимались самыми разными проблемами и использовали самые разные методы исследования. В начале нашей научной деятельности мы встречались очень редко и следили за работой друг друга в основном по публикациям. Несмотря на это, сходство наших взглядов и суждений было удивительным. В чем-то совпадающим, а в чем-то взаимодополняющим оказалось и наше знание научной литературы. Поскольку мы работаем на разных континентах, А. Г. Мотульски лучше знаком с идеями и результатами научной работы в США, а Ф. Фогель лучше знает европейскую лите-



ратуру. Кроме того, мы оба имеем большой редакторский опыт. Один из нас (Ф. Фогель) некоторое время назад опубликовал в Германии довольно популярный учебник (*Lehrbuch der allgemeinen Humangenetik*, Springer, 1961), ряд разделов которого не утратил своей ценности и сейчас. В конце концов мы решили рискнуть и, написав обращенную в будущее книгу, обнародовать несовершенство наших знаний, недостатки понимания и пристрастностей суждений.

Книга, цель которой — освещение основных положений генетики человека, не может быть категоричной и должна содержать критический анализ приводимых утверждений. Мы не имели права ограничиваться изложением «голых» фактов и бесспорных утверждений. Нельзя было не упомянуть и множество неподтвержденных пока догадок и гипотез. Однако мы отдаем себе отчет, что приведенные нами данные могут быть в дальнейшем опровергнуты.

Наши коллеги В. Бусельмайер, У. Эхлинг, Г. Фляц, В. Фурманн, С. Гартлер, Э. Жиблетт, П. Проппинг, Л. Резник и Т. М. Шредер прочитали и сделали полезные замечания по тем разделам книги, в которых они являются специалистами. Они не несут никакой ответственности за возможные ошибки, содержащиеся в книге. Чрезвычайно полезной была помощь Дж. Крюгера в вопросах статистики. Неоценимую

помощь оказали наши секретари, г-жа Адельхейд Фенглер и г-жа Габриель Бауэр в Гейдельберге, г-жа Сильвия Ваггонер в Сизтле и г-жа Хелен Смит в Стэнфорде. Рисунки были выполнены Эддой Шолт и Марианной Лебкюхнер. Квалифицированную работу по редактированию рукописи провели Мириам Галлахер и Сюзан Питерс. Авторы особенно благодарны доктору Хейнцу Гетцу и доктору К. Шпрингеру из издательства «Шпрингер» за отличное издание книги. Книга не была бы написана, если бы авторам не была предоставлена возможность работать над ней в Центре современных исследований в области науки о поведении в Стэнфорде (Калифорния) в течение академического 1976–1977 гг. Грант А. Мотульски был любезно предоставлен Кайзеровским фондом, а грант Ф. Фогелю — Спенсеровским фондом.

На обложке нашей книги помещено изображение первой библейской пары, Адама и Евы, созданное Альбрехтом Дюрером. Они предстают во всей красоте своего тела, облагороженного гением и мастерством великого художника. Этот рисунок должен напоминать нам об уникальности и достоинстве человеческого индивидуума. Генетика человека может помочь нам лучше понять человеческую природу и сделать жизнь людей счастливее. Эта наука — яркая иллюстрация к высказыванию папы римского Александра: «Основной объект познания человечества есть сам человек».

Весна 1979

*Фридрих Фогель  
Арно Г. Мотульски*

Professor Dr. Friedrich Vogel, Institut für Anthropologie und Humangenetik, Heidelberg, FRG.  
Arno G. Motulsky, Professor of Medicine and Genetics, University of Washington, USA.

# Введение

*Генетика человека как фундаментальная и прикладная наука.* Генетика человека – наука и фундаментальная, и прикладная. Как фундаментальная наука – это область генетики, которая изучает законы наследственности и изменчивости у самых интересных организмов – человеческих существ. Научные результаты, полученные при этом, ценны для нас не только в теоретическом отношении, но и в практическом плане. Вот почему генетика человека – это также и прикладная наука. Важность ее для благополучия человечества очень велика, успехи, достигнутые в этой области, приносят ученым большую радость, чем новые сведения, полученные в чисто теоретических или чисто прикладных исследованиях.

*Наука генетика.* В настоящее время генетика представляет собой высокоразвитую науку. Она имеет мощную и глубоко разработанную теорию. Глубина теории определяется сложностью проблем, которые она в состоянии сформулировать, а оценить ее можно по трем характерным признакам: широкому применению формализованных понятий, наличию представлений о механизмах и высокой способности объяснять различные явления. Основное представление генетики – это понятие о гене как единице хранения, передачи и реализации наследственной информации. Со времени открытия законов Менделя в 1900 году началось изучение генетических механизмов. Оно привело к расшифровке генетического кода, описанию процессов транскрипции, трансляции и функционирования белков, кодируемых определенными генами. В настоящее время уточняется тонкая структура генов, активно проводятся исследования по регуляции активности генов в ходе развития и функционирования организмов.

Способность существующей теории объяснять факты до сих пор далеко не исчерпана.

*Как развивается наука?* В 1962 г. Кун [257] описал историю развития науки следующим образом: на ранней стадии идет активное состязание между разнообразными попытками теоретического объяснения и экспериментальной проверки фактов. Происходит переход от общих рассуждений к постановке ряда проблем, формулируемых пока еще, правда, не вполне отчетливо. Затем какая-либо одна концепция находит приверженцев среди группы ученых, преследующих общие цели, одновременно сосредоточивших свое внимание на одном или нескольких аспектах изучаемой проблемы и предлагающих способы их решения. Если оказывается, что предложенная концепция эффективна, ее принимают все большее число ученых, которые начинают работать, руководствуясь ее положениями, используя ее возможности, расширяя область ее применения и развивая ее до преобразования в научную теорию.

Научная концепция характеризуется тремя важными особенностями.

1. Она подсказывает, в каком направлении надо работать, чтобы найти пути решения конкретной проблемы.
2. Она определяет круг ученых, пытающихся опробовать данный подход к проблеме, расширить область его применения, углубить его теоретический базис путем усовершенствования основных методов и повысить способность объяснять явления.
3. В момент формирования концепции теории еще не существует, ее созданием завершается развитие концепции.

Такой процесс развития науки в рамках некоторой концепции был определен Ку-

ном как «нормальное» развитие науки. Первоначальная теория воспринимается как аксиома. На этой стадии нет смысла сомневаться и проверять правильность ее первооснов. Вместо этого теорию применяют для решения множества проблем, вплоть до самых сложных. Время от времени, однако, получают результаты, которые на первый взгляд не поддаются объяснению. Их пытаются интерпретировать в рамках существующей теории с помощью дополнительных гипотез. Часто такие попытки оказываются успешными; однако иногда они не удаются. Если в подобной ситуации появляется другая концепция, которая объясняет большую часть явлений, укладывающихся в старую теорию, а также не укладывающиеся в нее факты, может произойти научная революция. Новая концепция получает поддержку все возрастающей части научной общественности и быстро превращается в новую, более общую теорию, после чего снова начинается обычный научный процесс.

Такое описание развития науки было подвергнуто критике со стороны некоторых ученых, занимающихся философией науки [258]. Понятие «нормальной» науки, рассмотренное выше, не устраивает ряд теоретиков. Работа в рамках некоторого круга идей была объявлена скучной, однообразной и так или иначе не тем, чем должна быть наука. Согласно представлению этих философов, ученым следует пребывать в состоянии постоянной революции, вновь и вновь сомневаясь в основных положениях своей науки, постоянно желая подвергнуть их решающей проверке, и, если удастся, опровергнуть (Porreger [279, 280, 281]; Watkins [287]). В то же время многие ученые, занимающиеся активной исследовательской деятельностью, быстро восприняли точку зрения Куна; по-видимому, он помог им выделить некоторые важные аспекты развития той области науки, в которой они работали.

*Основные положения генетики.* Хотя идеи Куна сформировались на базе истории развития физических наук, его формулировки вполне применимы и к развитию генетики: до второй половины XIX века феномен

наследственности не исследовался. Было известно, что иногда, но не всегда дети похожи на своих родителей, был известен семейный характер распространения некоторых заболеваний, свойства растений и домашних животных удавалось улучшить путем выборочного скрещивания. Были эмпирически выведены даже простейшие законы, такие, как, например, закон Нассе о том, что гемофилией болеют только мальчики, но передается это заболевание через их матерей и сестер (разд. 3.1.4). Тем не менее убедительной общей теории не было, и попытки создать такую теорию успеха не имели. В этой ситуации Мендель в работе «Опыты над растительными гибридами» (1865, [266]) первым усовершенствовал метод исследования: он анализировал наследование отдельных признаков и, кроме того, ввел в опыты по скрещиванию количественный анализ потомства. Мендель интерпретировал результаты как случайные комбинации основных единиц наследственности. Допустив существование таких единиц, он пришел к идее гена – основополагающей концепции теории генетики (разд. 1.4).

С этого момента работа Менделя приобрела все три черты научной концепции: она стала эталоном того, как следует проводить и оценивать эксперименты по скрещиванию; привела к возникновению научного «сообщества» генетиков и к созданию глубокой и плодотворной научной теории. Отдельный вопрос, на который, по нашему мнению, не найдено удовлетворительного ответа: почему открытие Менделя должно было ждать своего признания целых 35 лет после опубликования результатов его экспериментов? Было бы слишком примитивно считать причиной этого академическое высокомерие и близорукость современников-биологов, которые не захотели принять работу исследователя, не принадлежавшего к академическому миру. Мы скорее склонны считать, что многие новые биологические открытия, сделанные за следующие после открытия Менделя 35 лет, были столь революционного свойства, что можно говорить о научном кризисе в то время (как его понимал Кун), и, следовательно, требовали совершенно нового подхода. Вскоре после переоткрытия законов Менделя в 1900 г.

возникла вначале небольшая, но быстро разросшаяся группа ученых, развивавших генетику во взаимодействии теории и эксперимента и положивших начало самой значительной научной революции XX века в области биологии.

*Генетика человека и революция в генетике.* Революцией в биологии XIX века можно считать создание теории эволюции, которая была принята научной общественностью. Одним из важных последствий этого стало осознание того факта, что люди произошли от других, более примитивных приматов, что человечество является частью животного мира и что законы наследственности, справедливые для всех других живых существ, распространяются и на человеческий род. Вскоре после этого законы Менделя были использованы для объяснения наследования определенных признаков у человека – главным образом пороков развития и болезней. Изучая характер наследования алкаптонурии, рецессивного заболевания, Гэррод (1902 г. [249]) четко установил основной принцип действия гена: генетические факторы детерминируют протекание химических реакций (разд. 1.5). Потребовалось 30 лет, чтобы его представления стали частью «нормальной» науки.

Выяснение принципов наследования признаков у людей началось не с менделизма. Иной подход был сформулирован Гальтоном в работе «Наследование таланта и характера» (1865 г. [248]) и в более поздних его работах. По Гальтону, чтобы сделать вывод о наследовании определенных свойств личности, таких, как высокая работоспособность, интеллект и внешние данные, следует возможно более точно количественно оценить эти свойства и затем сопоставить полученные оценки для индивидов с известной степенью родства (например, для родителей и детей, сибсов или близнецов), используя статистические методы. При таком подходе невозможно объяснить механизмы наследования. В то же время он может быть намного более полезен при изучении человеческих характеров, чем анализ по Менделю; анализу родословной в соответствии с законами Менделя препятствовало то обстоятельство, что большинство индивидуальных особенностей нельзя просто раз-

делять на определенные типы, как это возможно в случае гладких и морщинистых горошин. Человеческие характеры, как правило, не имеют однозначных различий и не образуют в популяции ряда четко различающихся групп. Кроме того, было очевидно, что фенотип зависит не только от генетических факторов, но также и от внешних условий; он есть результат взаимодействия «врожденного и приобретенного» (Гальтон). Поэтому наивные попытки объяснить особенности характера с помощью законов Менделя были обречены на неудачу. Наследование таких, считающихся важнейшими, свойств личности, как интеллект и характер, а также многих заболеваний и умственной отсталости можно было изучать либо так, как предлагал Гальтон, либо вообще не изучать. Прежде чем исследовать генетические механизмы наследования у человека, необходимо было сначала получить представления о генетике других, более простых организмов. В сложившейся ситуации ученые предпочли пойти по пути Гальтона. Такой выбор был обусловлен не только причинами чисто научного свойства, на него сильно повлияло стремление оказать помощь конкретным людям и семьям, установить степень риска возникновения определенных заболеваний и создать прочную основу для генетической консультации. Еще одной важной причиной было беспокойство некоторых ученых о биологическом будущем человечества, которому, как им казалось, угрожал вырождение из-за нарушения процесса естественного отбора. Мотивировка их взглядов была в значительной степени евгенической: попытаться подвести рациональную основу под меры по ограничению воспроизводства некоторых групп населения с высоким риском возникновения заболеваний.

*История генетики человека: борьба двух концепций.* Начиная с 1900 г. и до настоящего времени две концепции – менделевское представление о гене и биометрический подход Гальтона – развивались параллельно. Многие современные проблемы, касающиеся генетики поведения, а также механизмов наследования соматических заболеваний, можно представить себе как борьбу двух

концепций. Это не означает, что менделевский и биометрический подходы взаимоисключают друг друга. Например, корреляция между родственниками, обнаруживаемая с помощью математического анализа, была объяснена Фишером в 1918 г. [664] с позиций механизмов активности генов. Некоторые специалисты по генетике человека в течение одного периода занимались исследованиями в рамках одной концепции, а затем – в рамках другой. Вообще говоря, эти два направления имеют мало общего и могут стать еще более полярными из-за узкоспециализированной подготовки представителей двух школ, одну из которых олицетворяет биохимическая лаборатория, а другую – компьютер.

В первые десятилетия нашего века биометрический подход Гальтона привел ученых к значительным успехам. Появились представления о генетической изменчивости как нормальных признаков, таких, как телосложение или интеллект, так и широкого круга патологий, таких, как умственная отсталость и психозы, эпилепсия, или соматических заболеваний – диабета, аллергии и даже туберкулеза. В ту пору казалось, что применимость менделевского подхода ограничивается случаями редких наследственных заболеваний; постоянно возобновлявшиеся попытки использовать законы Менделя для объяснения наследования нормальных физиологических признаков и соматических заболеваний, как правило, предпринимались без критической оценки этого подхода. Первой важной победой менделевской генетики стало признание гипотезы трехаллельного наследования групп крови АВО, предложенной Бернштейном в 20-х гг. нашего века [240] (разд. 3.2.2). Дальнейшие успехи были достигнуты благодаря работам, проведенным на других организмах, таких, как *Drosophila*, бактерии и вирусы, в особенности бактериофаги.

Сильное влияние на развитие генетики человека оказало возникновение в конце 40-х и в 50-е гг. новой науки – молекулярной биологии. Основным событием стало выяснение Полингом и его коллегами в 1949 г. [1260] причины серповидноклеточной анемии. Эта болезнь – следствие аномалий в структуре молекулы гемоглобина.

Исследования хромосом человека, развернувшиеся в конце 50-х – начале 60-х гг. (разд. 2.1), ознаменовали начало второго важного этапа. В настоящее время большинство работ по генетике человека проводится в общем потоке исследований, проводимых в рамках генетической теории. Оказалось, что человек, которого экспериментаторы раньше считали малоподходящим объектом для генетических исследований, обладает определенными преимуществами для решения фундаментальных проблем. К таким преимуществам относятся высокая численность доступных для изучения популяций, значительное число и разнообразие известных мутаций и хромосомных аномалий, а также doskonaльное знание физиологии и биохимии человека в норме и при различных заболеваниях.

Можно было ожидать, что достигнутые успехи сделают учение Менделя господствующей теорией в генетике человека. И действительно, генетическая теория сейчас проникает в области, еще недавно казавшиеся для нее недоступными. Однако подход Гальтона – биометрический анализ – в последнее время достиг высочайшего уровня формализации. Распространение компьютеров сильно способствовало развитию и внедрению биометрических методов. Более того, в некоторых областях, таких, как генетика поведения, применение законов Менделя все еще наталкивается на значительные препятствия (разд. 8), и здесь пока преобладают биометрические методы. Однако в этой же области они подвергаются и самой суровой критике.

*Успехи генетики человека и их практическое значение.* Развитие молекулярной биологии и хромосомных исследований не только изменило генетику человека как «чистую» науку, но также привело и к использованию ее достижений для охраны здоровья людей. Вначале этот процесс был не очень заметен; улучшилась диагностика наследственных заболеваний, была выявлена связь между некоторыми ранее необъяснимыми пороками развития и хромосомными aberrациями. Первый осязательный успех пришел в начале 50-х гг., когда установление биохимической природы дефектов при фенилкетонурии (разд. 4.2.2.7) и

галактоземии привело к разработке специальной диеты, предотвращающей развитие этих заболеваний. Однако значительно более важным событием стало появление в конце 60-х – начале 70-х гг. методов пренатальной диагностики хромосомных аберраций и некоторых дефектов метаболизма (разд. 9.1.1). Теперь оказалось, что генетическая консультация может во многих случаях основываться не только на вероятностных прогнозах, но и на достоверных индивидуальных диагнозах. Это научное достижение совпало с осознанием значительной частью населения того факта, что рождаемость должна разумно регулироваться. Стало очевидно также, что легче предупредить рождение детей с тяжелыми наследственными нарушениями, чем бороться с этими недугами. Во многих странах для широкого применения достижений медицинской генетики созданы или создаются специальные учреждения.

*Значение практики для научных исследований.* Практическое применение достижений генетики человека привело к значительному росту числа научных работников и объема исследований в последние 20–30 лет. В первой половине нашего века генетика человека интересовала лишь горстку ученых, для большинства из которых она не была основным занятием. Многие из них получили медицинское образование и основную часть жизни посвятили работе в специальных областях медицины. Например Ваарденбург и Францетти были офтальмологами, а Сименс – дерматологом. Других интересовали теоретические проблемы популяционной генетики и эволюции, и для них генетика человека стала областью приложения их теоретических знаний, наиболее интересные из них – это Холдейн и Фишер. Некоторые ученые пришли в генетику человека из антропологии. Такие разнородные группы не могли сформировать единого научного направления. В течение длительного времени практически не существовало какой-либо социальной структуры, способной обеспечить развитие научного направления. Фактически не было никаких специальных учреждений, журналов и международных конференций. Все это приво-

дило к большим различиям в качестве и содержании научных работ.

Сейчас положение совсем иное. Во многих странах существуют учреждения и общества, занимающиеся вопросами генетики человека и медицинской генетики; в университетах и медицинских учебных заведениях введены специальные курсы, издается множество журналов и сборников статей по современному состоянию науки, проводятся многочисленные конгрессы и конференции.

*Развитие науки и широкое практическое применение ее достижений.* Развитие генетики человека имеет ряд важных особенностей.

1. Стимулируются исследования преимущественно в тех областях, где они могут сразу же принести практическую пользу (медицинская цитогенетика и пренатальная диагностика наследственных заболеваний); направления, сиюминутная практическая ценность которых не столь высока, могут оказаться в забвении.

2. В прошлом работы по генетике человека мало пересекались с фундаментальными исследованиями в смежных областях, таких, как молекулярная биология и биология клетки. Тем самым могло быть затруднено использование научных концепций и экспериментальных подходов из этих областей. К счастью, положение быстро изменилось в связи с появлением «новой генетики» (разд. 2.3).

3. Если выбор основных направлений исследований по генетике человека осуществляется исключительно в интересах практической медицины, это ведет к отставанию в других областях, имеющих важное значение как для понимания эволюции человека (и, возможно, истории человечества), так и для нормального функционирования человеческого общества и его учреждений. Популяционная и эволюционная генетика, с одной стороны, и генетика поведения, с другой стороны, – это те два направления, которые страдают больше всего. Если исключить их из числа основных направлений исследований по генетике человека, то сразу же утратится их смысловая связь с биологией человека.

4. Для ответа на конкретные вопросы в медицинских исследованиях используются как традиционные, так и новые методы. Часто бывает так, что отдельные результаты не имеют важного значения, а вместе они представляют необходимый «строительный материал» для дальнейшего развития науки. Чтобы генетика человека шла вперед, необходимы новые гипотезы и их всесторонняя проверка.

Ученые, занимающиеся исследованиями по генетике человека, должны понимать важность генетической теории. В тех областях этой науки, где пока невозможно немедленное практическое применение полученных результатов, необходимо проводить фундаментальные исследования, которые со временем могут приобрести не менее важное значение для будущего человечества, чем текущее практическое использование достижений генетики в профилактической медицине.

*Ценность практических приложений для научных исследований.* Потребности в медицинской диагностике и консультации послужили сильным побудительным стимулом для фундаментальных исследований. Многие явления, которым фундаментальная наука пытается найти объяснение, просто остались бы неизвестными, если бы они не обнаружили при изучении заболеваний. Мы бы не знали о роли половых хромосом в определении пола, не будь больных с аномалиями половых хромосом. Такое явление, как нестабильность хромосом при анемии Фанкони или синдроме Блума, с возникающими при этом соматическими мутациями и злокачественными новообразованиями (разд. 5.1.6), было обнаружено случайно при обследовании отдельных пациентов с целью постановки диагноза. Генетический анализ «супергена» главного комплекса гистосовместимости у человека внес большой вклад в наши представления о том, как организован генетический материал на уровне более высокого, чем генный локус, и за счет чего достигается высокое генетическое разнообразие в человеческой популяции (разд. 3.5.5). Исследования в этой области наверняка развивались бы значительно ме-

нее интенсивно, не будь вдохновляющего стимула добиться хороших результатов трансплантации органов.

Общество выделяет очень большие средства на исследования по генетике человека, поскольку надеется получить практическую пользу от них. Чтобы развивать фундаментальные исследования, необходимо выдвинуть на первый план решение разнообразных практических задач. С другой стороны, залогом успехов в практическом применении достижений генетики человека в будущем – и не только в области медицины – служит развитие фундаментальных исследований. К тому же это единственный способ привлечь хороших специалистов и сохранить и даже повысить уровень научных разработок. Этот парадокс делает необходимым деление стоящих перед генетикой человека проблем по их приоритетности.

*Генетика человека и социология.* Генетика человека, как и все другие науки, не эволюционировала в социологическом вакууме, следуя исключительно законам внутренней логики развития теории и эксперимента. Генетика человека – продукт научной деятельности социальной группы людей, подчиняющихся законам коллективной психологии. К сожалению, социологический анализ формирования научных коллективов, занимающихся генетикой человека, не ведется. Социологами активно изучалась другая группа ученых, тех, кто участвовал в создании молекулярной биологии и генетики и для изучения реализации генетической информации использовал бактериофаги *E.coli* [237]. Эти исследования показали, что на этапе формирования новой научной концепции между членами группы, разрабатывающими эту концепцию, устанавливаются тесные контакты. Обычные каналы обмена информацией, такие, как публикации в научных журналах и конгрессы, заменяются менее формальным общением по телефону, через препринты или при личных встречах. Внутри такой группы наиболее авторитетные личности становятся интеллектуальными лидерами и (или) организаторами. Внешние же контакты сведены до минимума. Когда пик научного переворота позади, связи внутри

группы ослабевают и снова начинается широкий обмен информацией по обычным каналам, в основном путем публикации.

Именно так и развивалась генетика человека. В разд. 2.1 мы рисуем структуру группы английских исследователей хромосом, работавших в конце 50-х гг., когда были обнаружены первые хромосомные aberrации у человека и положено начало клинической цитогенетике. Другие, современные примеры – группы, активно занимающиеся изучением главного комплекса гистосовместимости (разд. 3.5.5) и поисками соответствия между геными локусами и сегментами хромосом с помощью метода гибридизации клеток (разд. 3.4).

Большое влияние на популяционную генетику оказал один из исследовательских проектов «фундаментальной науки» по генетике человека – проект Комиссии по изучению последствий применения атомной бомбы (ABCC – Atomic Bomb Casualty Commission), развернутый в конце 40-х гг. в Японии американскими и японскими учеными для выяснения генетических последствий атомных взрывов в Хиросиме и Нагасаки (разд. 5.2.1.4). В дальнейшем этот проект положил начало всестороннему изучению генетических последствий близкородственных браков. Инициаторами многих, если не большинства, наиболее интересных работ по генетике человека были вовсе не те ученые, которые считали себя специалистами в этой области и работали в учреждениях, занимающихся генетикой человека. Эти работы были начаты исследователями, работающими в других областях, таких, как общая цитогенетика, клеточная биология, молекулярная биология, биохимия, иммунология, а также клиницистами – педиатрами, гематологами или психиатрами. Решение многих генетических проблем было достигнуто с помощью негенетических методов исследования, применяемых в других областях, таких, как биохимия и иммунология. Число исследователей, работающих на стыке научных направлений, возрастало быстрыми темпами. Большинство из них начинали свою деятельность не как специалисты по генетике человека, а как специалисты в области

медицины, биохимии, статистики, общей цитогенетики и т. д. Они стали заниматься генетикой человека в процессе своей работы. Значительное разнообразие начальной подготовки специалистов по генетике человека порождает споры между ними, что в свою очередь является стимулом развития этой науки и представляет собой неотъемлемую часть ее современного интеллектуального достояния. Однако это может быть и помехой, поскольку иногда приводит к переоценке какого-то узкого направления за счет утраты широкого взгляда на весь круг проблем данной области науки. С возрастаньем сложности методов исследования специализация внутри генетики человека стала неизбежной. Однако в связи с этим возникает опасность сужения кругозора ученых, приостановки развития целых научных направлений и отказа от проведения перспективных исследований.

*Взаимосвязь генетики человека с другими областями науки и медицины.* Быстрое развитие генетики человека в последние десятилетия привело к ее широкому взаимодействию с другими областями науки и медицины. Помимо общей, молекулярной генетики и цитогенетики особенно тесные связи установились с клеточной биологией, биохимией, иммунологией, а из клинических дисциплин – с такими, как педиатрия, офтальмология и дерматология. В то же время генетика человека мало связана (если вообще связана) с физиологией, что, возможно, приносит ущерб развитию этих наук. Одной из причин отсутствия плодотворного взаимодействия между ними может быть различие в основном подходе: генетический анализ по Менделю представляет собой попытку разложить причину возникновения определенного свойства человека на простейшие составляющие. Генетик знает, что в принципе фенотип – это результат сложных взаимодействий между различными генами, но его больше интересуют сами компоненты, а не точный механизм таких взаимодействий. В настоящее время генетический анализ осуществляется на уровне структуры гена и генетического кода. Недоброжелатель может сравнить генетику с человеком, который, чтобы по-



нять содержание книги, сжигает ее и исследует химический состав золы.

Физиолог, наоборот, пытается читать книгу. Однако он часто заранее предполагает, что все экземпляры книги должны быть полностью идентичны: к различиям он относится как к отклонениям. Иными словами, физиология изучает не элементы как таковые, а способ их взаимодействия в сложных функциональных системах<sup>1</sup>. Физиологов больше занимает интеграция взаимодействующих систем, чем исследование их компонентов. Представление о регуляции активности генов на основе механизмов обратной связи, например модель Жакоба и Моно для бактерий и некоторые представления генетики развития высших организмов, в настоящее время приводят многих генетиков к пониманию полезности системного подхода к явлениям. Поэтому можно надеяться, что разрыв между генетикой и физиологией в ближайшем будущем будет устранен. Возросший интерес специалистов по генетике человека к генетическим аспектам соматических заболеваний и реакций на такие воздействия, как питание и стресс, несомненно окажет влияние на те области медицины, которым до сих пор генетика приносила сравнительно немного практической пользы.

*Будущее генетики человека.* Научные методы исследования становятся все более сложными и дорогостоящими, и генетика человека в этом смысле не исключение. Отсюда неизбежно следует, что овладение такими методами требует все большей специализации в узкой области. Закупка сложного оборудования создает финансовые трудности. Из-за этого выбор направления исследования часто определяется не собственным научным интересом к проблеме или убеждением, что она в принципе разрешима, а доступностью соответствующих методов исследования, наличием квалифицированных сотрудников и оборудования. Тенденция к узкой специализации безусловно сохранится, и очень вероятно, что в ходе этого процесса важные разделы генетики человека «растворятся» в областях,

развитие которых в основном зависит от определенных методов исследования, таких, как биохимия, изучение хромосом или иммунология. Уже сейчас пренатальная диагностика, включая работу с культурой клеток и хромосомный анализ, иногда входит в компетенцию акушеров; наследственные нарушения метаболизма часто изучаются и лечатся педиатрами с недостаточной генетической подготовкой. Сведется ли в будущем генетика человека к популяционной генетике, с одной стороны, и цитогенетической диагностике — с другой?

Существование какого-либо научного направления само по себе не имеет значения. Если такое направление отмирает из-за того, что его достижения стали общепринятыми и успешно интегрировались с другими областями, ничего не потеряно. Однако генетика человека такого уровня еще не достигла. Многие положения молекулярной биологии все еще не используются применительно к человеку, а психология и другие социальные науки получили хотя и убедительную, но недостаточную поддержку со стороны генетики человека.

*Генетика человека и медицинская генетика.* Генетика человека — обширная наука с неопределенными границами. Развитие различных подходов и методов привело к появлению множества отдельных специальных разделов этой науки. Многие из них перекрываются и не являются единственными в своем роде. *Биохимическая генетика человека* включает биохимию нуклеиновых кислот, белков и ферментов у здоровых и больных людей. Здесь применяются методы исследований, используемые биохимиками и молекулярными биологами (хроматография, анализ ферментов, расщепление ДНК рестриктазами). *Цитогенетика человека* занимается изучением хромосом человека в норме и патологии. *Иммуногенетика человека* — это в значительной мере генетика групп крови и тканевых антигенов, например, типа HLA. *Формальная генетика* изучает наследование менделевских признаков и исследует более сложные типы наследования у человека с помощью статистических методов. *Клиническая генетика* решает задачи диагности-

<sup>1</sup> Для сравнения см. Н. Mohr (1977) [267].

ки, прогнозирования и, в известных пределах, лечения различных наследственных заболеваний. Диагностика требует понимания этиологических факторов и знания множества синдромов. Генетическая консультация – важная область клинической генетики, для которой требуются мастерство в постановке диагноза, определения степени риска и искусство человеческого общения. *Популяционная генетика человека* изучает поведение генов в больших популяциях и, кроме того, исследует действие в человеческих популяциях таких факторов, как дрейф, миграции, мутации и отбор. Изучение структуры генетического фонда человеческих сообществ ведется на основе определения частоты встречаемости маркерных генов. В последнее время специалисты в области популяционной генетики заинтересовались эпидемиологией сложных генетических заболеваний, изучение которой требует применения биометрических методов. *Генетика поведения* – наука, изучающая наследственные факторы, детерминирующие поведение здоровых и больных людей. Специалисты по генетике поведения пытаются выявить гены человека, определяющие его индивидуальность и познавательные способности. Изучается также генетическая основа развития умственной отсталости и различных психических заболеваний. Новое направление – *социальная биология* – объясняет поведение человека в обществе на основе биологических и эволюционных представлений. *Генетика соматических клеток* – область генетики человека, которая изучает перенос генов на клеточном уровне. Гибридизация клеток организмов разных видов стала важным методом, используемым для картирования генов человека. *Генетика развития* исследует генетические механизмы нормального и аномального развития. Это направление исследований относительно мало развито применительно к человеку и в значительной мере базируется на экспериментальных данных, полученных на низших млекопитающих, таких, как мышь. *Генетика размножения* – раздел генетики, изучающий особенности образования гамет и ранних стадий развития эмбриона с помощью генетических методов. Этот раз-

дел тесно связан с физиологией размножения и интенсивно развивается. *Фармакогенетика* занимается генетическими факторами, обуславливающими распределение и метаболизм лекарственных препаратов в организме. Особый интерес для исследователей, работающих в этой области, представляют извращенные реакции организма на лекарственных препараты.

Своим бурным развитием в последние годы клиническая генетика обязана широкому практическому распространению диагностики и консультаций, пренатальной внутриматочной диагностики и скрининга с целью выявления генетических заболеваний. Большинство научных исследований по генетике человека ведется сейчас в области клинической генетики, цитогенетики, молекулярной и биохимической генетики, генетики соматических клеток и иммуногенетики при содействии со стороны медицины. Сильнейшим стимулом для развития исследований по формальной и популяционной генетике стала всеобщая компьютеризация.

*Возможная роль учебника.* В своем очерке *The Structure of Scientific Revolutions* Кун в 1962 г. [257] дает не очень лестную оценку учебным пособиям. Он пишет, что они представляют собой педагогическое орудие увековечения «нормальной» науки и создают впечатление, что наука развивается путем простого накопления знаний. Кун считает, что учебники искажают реальную историю развития данной области науки, поскольку в них упоминаются только те достижения прошлых лет, которые могут считаться непосредственными предвестниками современных представлений. «Они искажают не только роль революций в науке, но и опровергают сам факт их существования...»

В нашей книге мы пойдем по следующему пути: будем описывать современное состояние проблем генетики человека так, как мы его себе представляем. При этом несомненно выявятся непоследовательности и противоречия, но это нас не пугает, поскольку мы разделяем мнение большинства ученых о существовании «белых пятен» в генетике человека. Ее нельзя считать

чем-то законченным или нуждающимся в простых дополнениях. Эта область генетики никогда не развивалась и никогда не будет развиваться как изолированная наука. Скорее это занятие людей — социальных групп и отдельных лиц, движимых различными целями: найти истину, получить признание среди равных себе, убедить общество субсидировать исследования в данной области науки, совершить что-то полезное для людей.

Таким образом, в нашей книге мы акцентируем внимание на истории генетики человека, этапах развития её идей и совершенствования методов. Иногда мы будем просить читателя вернуться назад, размышляя вместе с нами о том, какова причина, по которой то или иное научное открытие произошло именно тогда, когда оно произошло, почему другое открытие не было сделано раньше или почему определенная область генетики человека не стала развиваться в том направлении, которое можно было ожидать исходя из логических соображений. Это неминуемо приводит к тому, что наша книга оказывается намного более критичной, чем это обычно свойственно учебникам. Такая критичность будет, по крайней мере частично, субъективной, отражающей личное мнение авторов. Задача авторов — убедить читателя в том, что критическое отношение способствует лучшему пониманию научных проблем и их возможных решений. В наши намерения вовсе не входит убедить читателя в том, что мы всегда правы.

Нам хотелось бы дать больше инфор-

мации о том, как социальные условия в обществе и его развитие отразились на достижениях генетики человека и как поиск решений ее проблем в свою очередь повлиял на развитие общества. Евгеника в США и идеология «расовой гигиены» в Германии оказали сильное влияние и на отдельных людей, и на социальную структуру общества в целом. Подробно обсуждать эту проблему мы считаем себя не вправе, поскольку систематических исследований проведено слишком мало. Однако потребность в таких исследованиях в настоящее время возрастает, так как многие этические проблемы, возникшие в первые десятилетия нашего века в связи с законом о принудительной стерилизации, сейчас вновь встают в полный рост. Это связано с развитием пренатальной диагностики, появлением возможности избирательно прерывать беременность и прогрессом в генной инженерии (разд. 9). Какую роль сыграли специалисты по генетике человека в распространении таких отвратительных мер, как уничтожение новорожденных со значительными пороками развития и умственно отсталых в нацистской Германии? Как будущие поколения оценят наши собственные действия? Это волнующие вопросы. Генетику человека можно сравнить с двуликим Янусом: это фундаментальная и одновременно прикладная наука, ее практическое применение неизбежно оказывает сильное влияние на общество, поднимая новые и сложные философские и этические проблемы.

# 1. История генетики человека

История генетики человека представляет особый интерес, поскольку концепции этой науки часто оказывали влияние на социальные и политические события. В то же время развитие генетики человека происходило под влиянием различных политических сил. Вот почему ей трудно было оставаться или только чистой наукой, или наукой, имеющей сугубо медицинское значение. Существующий сегодня интерес к вопросу о наследовании IQ (коэффициент интеллектуальности) и реальности врожденных форм поведения снова привлек внимание общественности к этой науке. Поэтому важно будет рассмотреть историю генетики человека, обращая внимание на ее взаимодействия с общественными силами. Мы сосредоточим наше внимание на сообщениях, имеющих особое значение для развития генетики человека, и упомянем лишь некоторые поворотные моменты в истории общей генетики.

## 1.1. Греки

Донаучные представления о передаваемых по наследству различиях между людьми, по всей вероятности, существовали уже в античные времена. Древнегреческие врачи и философы не только сообщали о таких наблюдениях, но и выдвигали теоретические объяснения и даже предлагали «евгенические» меры.

В высказываниях, обычно приписываемых Гиппократу, можно найти следующее утверждение:

«Относительно семени, однако, я утверждаю, что оно выделяется всем организмом, всеми его частями, мягкими и твердыми, и всеми выделяющими влагу тканями... Семя производит все тело, здоровое семя производят здоровые части тела, больное – больные. Раз, как правило, у лысого рождается лысый, у голубоглазого – голубогла-

зый, а у косоного – косой, ничто не помешает рождению длинноголовых у длинноголовых».

Это примечательное высказывание содержит не только наблюдения о наследовании нормальных и патологических черт, но также и теоретическое объяснение такого наследования, основанное на предположении о том, что носитель информации, семя, производится всеми частями тела, здоровыми и больными. Эта теория впоследствии приобрела известность как *теория пангенеза*. Анаксагор, афинский философ (500–428 гг. до н.э.) имел сходные взгляды:

«... одно и то же семя несет в себе волосы, ногти, вены, артерии, сухожилия и кости, хотя и невидимые, поскольку их частицы чрезвычайно малы. Во время роста они постепенно отделяются друг от друга, ибо ... как могут волосы произойти не от волос, а плоть не от плоти?»<sup>1</sup>.

По его мнению, мужские особи дают семя, а женские особи – вместилище для плода. Вполне законченная теория наследственности была разработана Аристотелем [7]. Он также был убежден в качественно различном вкладе мужского и женского начал в деторождение. Мужской организм, как ему казалось, запускает действие, тогда как женский предоставляет материал, подобно столяру, вырезающему кровать из дерева. Когда мужское начало сильнее, рождается сын, который при этом больше похож на отца, и наоборот. Вот почему сыновья обычно похожи на своих отцов, а дочери – на матерей.

По словам Бартелмеса [7] «при чтении текстов, оставленных этой культурой, убеждаешься в том, что греки в лице своих наиболее зрелых мыслителей подошли ближе к пониманию теоретических проблем

<sup>1</sup> Фрагмент 10 (см. Capelle [244]).

наследственности, чем самого феномена». Утверждение Аристотеля представляет собой пример того, как наблюдение может быть неправильно истолковано, исходя из предвзятых теоретических представлений. Ни сыновья не похожи больше на своих отцов, ни дочери — на матерей. Платон в своем труде «Политика» подробно объясняет, как следует подбирать супругов, чтобы рождались дети, которые смогут стать выдающимися личностями и в физическом, и в нравственном отношениях. Он пишет:

«А ведь делают они это без достаточного основания, заботясь лишь о минутном покое, и потому выбирают себе подобных; тех же, кто на них не похож, отталкивают, отмеривая им величайшую меру презрения.

... Те, кто отличается упорядоченностью, ищут нрав, подобный их собственному, и по возможности берут жен у таких же родов, а дочерей своих стараются выдать в такие семьи. То же самое делает мужественный род людей, когда ищет близких к собственной природе, в то время как оба рода должны были бы делать прямо противоположное.

... А потому мужество многих родов, не смешанное от рождения с благоразумной природой, сначала наливается силой, род конец же превращается в совершеннейшее безумие.

... Душа же, чересчур исполненная скромности и не смешанная с дерзновенной отвагой, передаваясь из поколения в поколение, становится более вялой, чем следует, и в конце концов полностью впадает в уродство».<sup>1</sup>

Платон настаивает на том, что потомки лучших представителей обоих полов должны воспитываться с особой тщательностью. Детей из низших слоев следует, напротив, предоставить самим себе. По мнению Демокрита «способности большинства людей развиваются в основном за счет упражнения, а не за счет природной predispositionности». Таким образом уже в трудах древнегреческих философов ставится проблема врожденного и приобретенного.

## 1.2. Ученые до Менделя и Гальтона

Литература средневековья содержит не много упоминаний о наследственности.

<sup>1</sup> Платон. Сочинения. — М.: Мысль, т. 3, ч. 2, 1972, с. 81.

Анализ природных явлений привел к созданию современной науки и возникновению нового взгляда на человека. Эмпирический подход оказался успешным в первую очередь при исследовании неорганической природы и только позже принес успех в биологии. В работе «Наследственные заболевания» испанского врача Меркадо (1605) влияние Аристотеля хотя и преобладает, однако в ней содержится утверждение, что оба родителя, а не только отец, определяют то, каким будет будущий ребенок. Мальпиги (1628–1694) выдвинул гипотезу «преформации», согласно которой в яйце имеется полностью сформировавшийся организм, которому потом остается только расти. После того, как в 1677 г. Левенгук обнаружил сперматозоиды, появились представления о том, что индивид сформирован уже в них и только вынашивается матерью. Длительная борьба между «овистами» и «сперматистами» завершилась, когда Вульф (1759) подверг критике обе стороны и подчеркнул необходимость дальнейших экспериментов. Спустя короткое время Гартнер (1772–1850) и Келрейтер (1733–1806) провели экспериментальные исследования наследственности у растений. Их работа подготовила почву для опытов Менделя [7].

Медицинская литература XVIII — начала XIX веков содержит публикации, из которых следует, что и в ту пору некоторые исследователи правильно оценивали явления, связанные с наследованием заболеваний. Например, в 1752 г. было опубликовано сообщение (Мопертюи, 1752) о семье, где в четырех поколениях наблюдалась полидактилия. Автор пришел к выводу, что это нарушение могло в равной степени передаваться как отцом, так и матерью. Затем, основываясь на вероятностных расчетах, он показал, что столь высокую частоту этого нарушения в данной семье объяснить только случайностью нельзя. Особого внимания заслуживает «Трактат о предполагаемых наследственных свойствах болезней». Его автор — английский врач и прекрасный исследователь Адамс (1756–1818) [268]. Книга содержит ряд замечательных выводов.

1. Сушествуют врожденные «семейные»

(рецессивные) и «наследуемые» (доминантные) факторы.

2. В случае возникновения семейных заболеваний родители часто состоят в близком родстве.

3. Наследственные заболевания не обязательно обнаруживаются при рождении, они могут проявляться в разном возрасте.

4. Существует предрасположенность к заболеваниям, которая приводит к развитию болезни только при дополнительном воздействии внешних факторов. Однако даже если индивиды, предрасположенные к возникновению заболевания, сами не больны, их потомство подвергается опасности заболеть.

5. Внутрисемейные корреляции, такие, как возраст, в котором возникает заболевание, могут быть использованы в генетическом прогнозировании.

6. Одинаковые по своим клиническим проявлениям болезни могут иметь разную генетическую основу.

7. Повышенная частота возникновения семейных заболеваний в изолированных популяциях может быть обусловлена инбридингом (близкородственным скрещиванием).

8. Репродуктивная способность у многих больных с наследственными заболеваниями снижена. Вот почему такие заболевания со временем должны исчезнуть (если время от времени они не будут возникать у детей здоровых родителей).

Адамс критически относился к «негативным» евгеническим мероприятиям. Он предлагал ввести регистрацию семей, в которых встречаются наследственные заболевания.

В 1820 г. немецкий профессор медицины Нассе правильно определил наиболее важные формальные признаки наследования гемофилии и представил типичную развернутую родословную больных. Он писал:

«Все сообщения о семьях, в которых обнаружена наследственная склонность к кровотечению, совпадают в том, что кровотечениям подвержены только лица мужского пола. Все четко придерживаются этой точки зрения. Женщины в таких семьях передают эту склонность от отцов к своим детям, даже когда они замужем за мужчинами из других семей, не подверженными

кровотечениям. У таких женщин никогда не наблюдаются наклонности к кровотечениям...»

Нассе также заметил, что у некоторых из сыновей этих женщин полностью отсутствует склонность к кровотечениям.

В медицинской литературе XIX века можно обнаружить значительно больше попыток обобщить наблюдения и выявить закономерности влияния наследственности на возникновение заболевания. Следует упомянуть об очень важных, тесно связанных концепциях «вырождения» и «опережения». Считалось, что наследственные заболевания от поколения к поколению проявляются все раньше и тяжелее протекают. Теперь мы знаем, что теория «вырождения» не имеет биологической основы, а «опережение» – статистический артефакт (см. разд. 3.1.7). Сейчас известно, что некоторые признаки, которые ранее исследователи относили к «признакам вырождения», проявляющимся во внешнем облике умственно отсталых, характерны для нарушения умственной деятельности, сцепленного с X-хромосомой или возникающего при аутосомных хромосомных aberrациях.

В работах большинства исследователей XIX века истинные факторы и ошибочные представления были перемешаны, а критерии для установления истины в то время еще не существовало. Такая ситуация была типичной для положения дел в науке на «донаучной» стадии ее развития. Генетика человека не имела основных теоретических положений. Как наука она сформировалась в 1865 г., т.е. именно тогда, когда появились биометрия и менделизм. Биометрический подход был очень популярен первые десятилетия нашего века, и его положения будут использованы во многих примерах и объяснениях, приводимых в этой книге. С появлением молекулярной биологии и раскрытием механизма действия гена использование биометрических методов пошло на убыль. Однако в тех областях генетики, в которых применение молекулярных методов еще невозможно (например, в генетике поведения или социальной генетике), многие новые достижения основываются на биометрической концепции и ее современных вариантах. Законы, сформулированные

Менделем на основе его экспериментов, оказались чрезвычайно плодотворными и мощными в аналитическом плане. Концепция гена, возникшая в результате этих экспериментов, стала центральной концепцией всей генетики, включая генетику человека. И ее возможности еще не исчерпаны.

### 1.3. Работа Гальтона «Наследование таланта и характера» [248]

В 1865 г. Гальтон опубликовал две короткие статьи с приведенным выше названием. Он писал:

«Власть человека над жизнью животных при выведении любых их разновидностей, какие он только пожелает, чрезвычайно велика. Может показаться, что физическое строение будущих поколений пластично почти так же, как глина, и подчиняется желаниям селекционера. Я хотел бы показать более тщательно, чем (насколько я знаю) это пытались сделать раньше, что в равной степени можно контролировать и появление людей с определенными умственными способностями.

В настоящее время широко распространилось заблуждение относительно наследования способностей. Принято считать, что дети выдающихся людей глупы; что если мощный интеллект кажется унаследованным от родителей, то только со стороны матери и что один из сыновей обычно намного талантливее, чем остальные члены семьи».

Затем Гальтон пишет о том, как мало мы знаем о законах наследственности у человека. По его мнению, это можно объяснить большой продолжительностью жизни поколения, которая сильно затрудняет исследования такого рода. Однако он убежден, что физические данные человека могут передаваться по наследству, поскольку наличие сходства между родителями и потомками. В то время не проводились эксперименты по скрещиванию животных, так что прямые доказательства наследственной передачи признаков отсутствовали даже для животных.

Что касается людей, писал Гальтон, «у нас есть все основания считать, что способности или особенности характера зависят от множества неизвестных причин, которые до сих пор не подвергались тщательному

анализу». Он делает вывод, что отдельные наблюдения неизбежно обманчивы и только статистический подход может быть адекватным.

Гальтон проанализировал множество биографий выдающихся людей, чтобы выяснить, насколько часто они состояли в родстве. Полученные цифры оказались намного выше, чем можно было ожидать для случайного распределения.

Сам Гальтон полностью отдавал себе отчет в очевидных причинах ошибочности биологических выводов, сделанных на основании таких данных. Он подчеркивал, что «когда отец достиг высокого положения, его сын будет поставлен в более благоприятные условия для продвижения, чем если бы он был сыном обычного человека. Социальное положение особенно важно для достижения успеха на государственной и военной службе...»

«Чтобы определить роль наследственности с большей точностью, следует выделить из нашего биографического перечня имена тех, кто достиг известности в более открытых для всех областях науки и литературы». В этих областях и в юриспруденции, которая, по его мнению, была «наиболее доступна для честного состязания», он обнаружил одинаково высокий процент близких родственников среди людей, ставших известными. Особенно заметно это было в случае лорд-канцлеров, наиболее важных деятелей в области юриспруденции в Великобритании.

На основании своих исследований Гальтон сделал вывод о том, что большие способности и достижение известности сильно зависят от наследственности. Подчеркнув роль социальных препятствий, затрудняющих женитьбу и воспроизводство способных, достигнувших успеха людей, он переходит к описанию утопического общества,

«в котором система конкурсных экзаменов для девушек, так же как и для юношей, разрабатывалась таким образом, чтобы выявить все существенные умственные и физические качества, и где ежегодно выделяется значительная сумма... на денежную помощь таким брачным парам, которые обещают дать детей, способных стать выдающимися государственными деятелями. Мы мо-

жем представить себе ежегодную церемонию в подобной Утопии или Лапуте, где Главный попечитель такого Фонда обращается к десяти глубоко смущенным молодым людям двадцати пяти лет со следующими словами...»

Короче говоря, этим молодым людям сообщают, что комиссия фонда пожертвований сочла их лучшими, подобрала каждому подходящую супругу, выделит им приданое и обещает оплачивать образование их детей.

Эта короткая выдержка показывает, что генетика человека — это одновременно и «чистая», и прикладная наука: с одной стороны, применение статистических методов позволило научно оценить правильность общих представлений и привело к созданию новой концепции. (Позже Гальтон и его ученик Пирсон развили дальше это направление и создали биометрическую генетику.) Однако, с другой стороны, научная работа в этой области имеет четко выраженный философский аспект: ведь в качестве объекта исследования здесь выступает поведение человека.

Начиная с работ Гальтона, исследования в области генетики человека приобрели сильную евгеническую направленность. Позже, по мере совершенствования методов и роста успехов в решении аналитических проблем, исследования все больше и больше утрачивали философский аспект. Во времена нацизма в Германии (1933–1945) люди убедились в том, к каким ужасающим последствиям может привести искаженное толкование утопической идеи об улучшении человеческого рода (разд. 1.8). Однако даже такой опыт иногда забывается, о чем свидетельствуют недавние дискуссии, посвященные геной инженерии (разд. 9.2). Тем не менее до сих пор вопросом первостепенной важности — а сегодня даже более важным чем когда-либо — остается вопрос, впервые поставленный Гальтоном: каково биологическое будущее человечества?

#### 1.4. Работа Грегора Менделя [266]

Другая ведущая концепция выдвинута Менделем в его знаменитой статье «Опыты над растительными гибридами». Эта работа была доложена 8 февраля и 8 марта

1865 г. членам Общества естествоиспытателей (Naturforschender Verein) в Брюнне (ныне Брно, Чехословакия) и затем опубликована в Трудах этого общества. Многие знают о том, что законы, открытые Менделем, оставались незамеченными в течение 35 лет, а затем в 1900 г. были переткрыты Корренсом, Чермаком и де Фризом [7]. С тех пор и до настоящего времени взгляды Менделя определяют развитие современной генетики, включая и генетику человека.

Свои опыты Мендель задумал, наблюдая декоративные растения и пытаясь получить новые варианты окраски путем искусственного опыления. Для экспериментов он отобрал сорта гороха, различающиеся по единственному признаку, такому, как цвет (желтый или зеленый) или форма семян (гладкие или морщинистые). Очень важно, что Мендель подсчитал все различающиеся типы потомков первого и последующих поколений. Проанализировав полученные результаты, он пришел к выводу, что при скрещивании имеет место свободное сочетание специфических свойств яйцеклеток и клеток пыльника. В действительности, по-видимому, эта мысль появилась у него раньше, и он только проверил и проиллюстрировал ее «лучшими результатами», поскольку статистическое соответствие данных, полученных им в эксперименте и ожидаемых исходя из теоретических соотношений, выглядит «слишком хорошо». Мендель открыл три закона:

1) *закон единообразия* гибридов первого поколения, который гласит, что после скрещивания двух гомозигот, несущих разные аллели, все потомство первого поколения ( $F_1$ ) будет идентичным и гетерозиготным;

2) *закон расщепления*, согласно которому при скрещивании гетерозигот расщепление по генотипу происходит в соотношении 1:2:1, а при возвратном скрещивании гетерозигот с гомозиготами — в соотношении 1:1;

3) *закон независимого комбинирования*. Согласно этому закону, разные признаки наследуются независимо друг от друга.

Что же принципиально нового было в методическом подходе Менделя, что выделило его открытие из ряда многочисленных попыток разрешить проблему наслед-



ственности в XIX веке? Можно назвать три наиболее важные черты.

1. Он упростил экспериментальный подход, выбрав контрастирующие признаки, изучил наследование каждого в отдельности и только потом перешел к более сложным комбинациям.

2. Оценивая результаты скрещиваний, Мендель не удовлетворился качественными выводами, но подсчитал число различных типов растений. Это позволило ему обнаружить статистические закономерности наследования.

3. Мендель дал правильную биологическую интерпретацию статистических закономерностей. Он пришел к выводу, что зародышевые клетки несут набор признаков, которые могут быть определены с помощью скрещиваний.

Опыты Менделя и выводы, сделанные из них, заложили основу концепции гена, которая является весьма плодотворной и сейчас. Историю генетики начиная с 1900 года определяют исследования гена. Оказалось, что в основе формальных закономерностей, полученных по статистическим данным, лежит последовательность пар оснований ДНК, содержащая информацию для синтеза белка и всех форм живого [247a].

#### 1.5. Прикладные исследования применительно к человеку: «врожденные ошибки метаболизма» по Гэрроду

В этом историографическом введении будет описан только первый шаг в развитии таких исследований: статья Гэррода (Garrod, 1902) [249] «Распространенность алкаптонурии: изучение химических особенностей». Имеются две причины, по которым этой статье мы уделяем особое внимание. Именно здесь впервые менделевская концепция гена была распространена на природу человека, а экспериментальный подход Менделя использован для исследования человека. Кроме того, эта работа содержит много новых идей, которые излагаются в доступной форме. Гэррод был врачом, преемником Ослера на самой престижной кафедре медицины в Оксфорде.

Его вклад в генетику человека не был оценен при жизни. Биологи обращали мало внимания на работы медиков. Их интерес был сконцентрирован на формальных вопросах генетики, а не на действии гена. Медицинский мир не понимал важности его наблюдений для медицины. По мнению Гэррода, наиболее важный результат проведенных исследований алкаптонурии состоит в следующем:

«... индивид либо имеет выраженную форму алкаптонурии, либо находится в нормальном состоянии, то есть либо из его организма выделяется несколько граммов гомогентизиновой кислоты в день, либо кислота вообще не выделяется. До сих пор никогда еще не наблюдалось ее появления в следовых количествах или постепенного увеличения или уменьшения ее выделения...»

Вторая важная особенность заболевания заключается в том, что оно «в подавляющем большинстве случаев является врожденным...». И в-третьих, «эта аномалия может проявляться у двух или большего числа братьев и сестер с нормальными родителями, среди предков которых не отмечалось случаев возникновения этого заболевания. В-четвертых, в шести из десяти описанных семей родители были кузенами, в то время как браки между кузенами в Англии тогда составляли не более 3%. Однако, с другой стороны, дети с алкаптонурией рождаются только в небольшом проценте случаев всех браков между кузенами.

«Нет оснований предполагать, что просто родство между родителями может приводить к такому нарушению у потомства, как алкаптонурия, и мы должны скорее искать объяснение в некоторых особенностях родителей, которые могли бы проявляться на протяжении поколений, но имеют большую вероятность проявиться у потомков при союзе двух членов семьи, в которой имеются носители этих признаков».

Затем Гэррод упоминает закон наследования, обнаруженный Менделем, который «предлагает разумное объяснение этого явления», сходящего с наследованием рецессивных признаков. Он цитирует выска-

звание Бэтсона и Сандерса<sup>1</sup>, с которыми он обсуждал свои данные:

«... мы знаем, что при браках между кузенами создаются условия для проявления у потомства редких и обычно рецессивных свойств. Если носитель гамет с таким свойством вступает в брак с индивидом, им не обладающим, свойство едва ли проявится, но кузены часто имеют сходные гаметы, которые при браках между ними могут слиться и таким образом привести к проявлению в зиготе специфических рецессивных свойств».

После критического анализа возможных причин алкаптонурии Гэррод делает вывод:

«Взгляд на алкаптонурию как на отклонение от нормального метаболизма или иной тип метаболизма приобретет значительный вес, если можно будет показать, что это не единственный пример химических нарушений в организме и что имеются аналогичные отклонения, которые можно отнести к этой же категории».

Отметив в качестве возможных примеров альбинизм и цистинурию, он продолжил: «Может ли быть так, что имеются другие химические аномалии, которые не сопровождаются такими явными нарушениями (как три состояния, описанные выше) и которые можно выявить только с помощью химического анализа?». И далее:

«Если в случае алкаптонурии и при других упомянутых заболеваниях мы имеем дело с отдельными нарушениями метаболизма, а не с результатами патологического процесса, естественно было бы думать, что это всего лишь исключительные случаи химических нарушений в организме, которые, вероятно, в небольшой степени имеются у всех людей, и что точно так же, как среди представителей данного вида нет двух особей с идентичным строением тела, так не могут быть идентичными и химические процессы в их организмах».

Он высказал предположение, что различная реакция на лекарства и инфекционные агенты может обуславливаться такими индивидуальными (химическими) различиями. В работе Гэррода выдвигаются следующие новые положения.

1. У человека алкаптонурия или есть, или нет, промежуточных состояний не бывает. Это действительно та ситуация, когда

можно сразу распознать простые варианты наследования.

2. Аномалия является врожденной.

3. Она встречается у сибсов, а не у родителей.

4. Родители часто кузены.

Два последних обстоятельства были объяснены с помощью менделевской гипотезы наследования рецессивных признаков. Особенно подчеркивается роль браков между кузенами в возникновении редких заболеваний; здесь мы оказываемся у истоков популяционной генетики.

5. Помимо алкаптонурии встречаются и другие отклонения от нормы. К ним относятся отсутствие пигмента в кожных покровах и цистинурия. Алкаптонурия может служить моделью «врожденных ошибок метаболизма». В 1908 г. Гэррод опубликовал свой классический труд, посвященный этой теме [75].

6. Отклонения от нормы могут быть выражены резко и обуславливать патологию. Менее выраженные химические различия между людьми встречаются очень часто. Можно сказать, что не найдется и двух «химически» идентичных людей.

В этой книге мы будем руководствоваться принципом генетической детерминированности биохимической индивидуальности человека. Интересно сравнить вклад Гэррода в генетику с вкладом Адамса. Помимо «семейной» распространенности некоторых наследственных заболеваний Адамс наблюдал ряд явлений, которые не были замечены Гэрродом, такие, как возникновение некоторых заболеваний в более позднем возрасте, внутрисемейная корреляция возраста проявления болезни. Однако в руках Адамса не было учения Менделя. Поэтому его попытки не могли привести к созданию четкой теории. Гэррод опирался на учение Менделя и, используя его, создал новое научное направление — биохимическую генетику человека.

## 1.6. Видимые носители генетической информации: первые исследования хромосом

И биометрический анализ Гальтона, и опыты Менделя по скрещиванию основывались

<sup>1</sup> Доклад Комитету по вопросам эволюции Королевского общества (1902 г.)

на явных фенотипических различиях между индивидами. Понятие гена было сформулировано при анализе фенотипов, появляющихся в результате определенных скрещиваний. Когда Мендель проводил свои эксперименты, не было ничего известно о возможном материальном носителе генетической информации в зародышевых клетках. Однако в течение следующих десятилетий, к концу XIX века были обнаружены хромосомы и исследованы митоз и мейоз. Было установлено так же, что эти процессы происходят абсолютно регулярно, и их роль в упорядоченной передаче генетической информации стала настолько очевидной, что спустя очень короткое время после переоткрытия законов Менделя в 1900 г. при сопоставлении менделевского расщепления признаков и разделения хромосом в процессе мейоза был сделан однозначный вывод: хромосомы являются носителями генетической информации [244а].

Многие исследователи внесли вклад в развитие цитогенетики [7; 239]. Хертвиг (1875) впервые описал оплодотворение у животных и воспроизводство клеточных у Флемминг (1880–1882) обнаружил расхождение сестринских хроматид при митозе; ван Бенеден (1883) наблюдал регулярное равномерное распределение хромосом между дочерними ядрами. Бовери (1888) выявил индивидуальные особенности каждой пары хромосом. Сам термин «хромосомы» ввел [244а] Вальдейер (1888).

Приблизительно в то же время Негели (1885) разработал теорию «идиоплазмы». По его представлению, это небольшая часть цитоплазмы, которая содержит (если использовать современную терминологию) «информацию» для развития следующего поколения. Он не связывал идиоплазму с какой-либо определенной частью клетки. Ру путем логических рассуждений первым сделал вывод о том, какими свойствами должен обладать носитель генетической информации. Наиболее важное специфическое свойство мейотических делений – упорядоченная редукция генетического материала – впервые была обнаружена Вейсманом.

Эти результаты привели ученых к мысли о том, что носителями генетической информации клетки являются ее хромосо-

мы. Вскоре после переоткрытия законов Менделя к такому выводу независимо пришли несколько исследователей (Бовери, Саттон, Корренс 1902; Де Фриз, 1903).

С тех пор изучение хромосом и генетический анализ остаются тесно связанными. На первых порах излюбленными объектами генетиков были насекомые и растения.

Цитогенетика человека стала бурно развиваться с 1956 г., когда было установлено, что в клетках человека содержится 46 хромосом. То, что это случилось так поздно, нельзя объяснить внедрением каких-то новых цитологических методов. В действительности это открытие могло быть сделано намного раньше. По-видимому, задержка объяснялась отсутствием интереса к генетике человека со стороны большинства ученых-медиков, занимающихся лабораторными исследованиями. В медицинских учебных заведениях генетика человека не существовала как самостоятельная научная дисциплина. Наследственные болезни считали исключениями, которые нельзя изучать медицинскими методами, такими, как методы анатомии, биохимии, физиологии, микробиологии, патологии и фармакологии. Большинство генетиков работало на биологических кафедрах университетов, колледжей или на сельскохозяйственных станциях. Проблемы цитогенетики человека их практически не интересовали. Обнаружение трисомии по 21-й хромосоме при синдроме Дауна и аномалии половых хромосом при нарушениях полового развития определило важность цитогенетики в медицине. Подробности развития цитогенетики человека будут описаны в гл. 2.

## 1.7. Первые достижения в области генетики человека

### 1.7.1. Группы крови АВО

АВО-система групп крови была открыта Ландштейнером в 1900 г. [259]. В 1911 г. ван Дунгера и Гиришфельд [245] подтвердили, что группы крови наследуются. Эти факты доказали применимость законов Менделя к наследованию признаков у человека. В 1924 г. Бернштейн установил, что система групп крови АВО контролируется

серией множественных аллелей одного человека локуса [240]. Благодаря совместным усилиям Винера, Левина и Ландштейнера спустя 25–30 лет был обнаружен резус-фактор (Rh) и показано, что гемолитическая желтуха новорожденных возникает вследствие иммунологической несовместимости матери и плода. Эти открытия позволили в 60-е гг. наглядно продемонстрировать возможность предупреждения гемолитической болезни новорожденных путем введения анти-Rh-антител матерям из группы риска развития этого заболевания [278; 291].

### **1.7.2. Закон Харди-Вайнберга**

Английский математик Харди [252] и немецкий врач Вайнберг [289] примерно одновременно в (1908 г.) доказали основополагающую теорему популяционной генетики, которая объясняет, почему от поколения к поколению не возрастает частота встречаемости доминантных генов. Харди опубликовал свое открытие в США в журнале *Science*. Он считал, что его работа будет сочтена коллегами-математиками слишком тривиальной. Вайнберг был практическим врачом, который внес большой вклад в развитие классической генетики. Он разработал множество методов исследования близнецов [288].

### **1.7.3. Достижения генетики человека в период 1910–1930 гг.**

В период 1910–1930 гг. в генетике человека не было сделано новых фундаментальных открытий. Основная часть представлений классической генетики (таких, как сцепление, нерасхождение, скорость мутационного процесса), а также данных по картированию хромосом была получена при изучении плодовой мушки. Многие ученые пытались распространить на человека новые генетические представления. Английские исследователи, например Холдейн, добились успеха в разработке различных статистических методов, необходимых для анализа распределения частот тех или иных признаков у людей. В тот же период Холдейном и Фишером в Англии и Райтом в США были

разработаны основные положения популяционной генетики, до сих пор используемые специалистами, работающими в этой области. В 1918 г. Фишер разрешил непримиримое противоречие между последователями Менделя и Гальтона. Он показал, что сходство между родственниками можно объяснить совместным действием многих индивидуальных генов. Важнейшим достижением в развитии медицинской генетики в этот период было эмпирическое определение вероятности передачи по наследству умственных и психических нарушений. Заслуга в этом принадлежит Мюнхенской школе генетики психических заболеваний, давшей в руки ученых четкие критерии для таких исследований.

## **1.8. Генетика человека, евгеника и политика**

### **1.8.1. Великобритания и США [236; 246; 256; 263; 283]**

Первое десятилетие нашего века ознаменовалось развитием евгеники в Европе и Соединенных Штатах Америки. На многих ученых-биологов оказали воздействие представления приверженцев евгеники о практической всеобъемлющем влиянии генетических факторов на развитие нормальных физиологических и умственных особенностей индивида, а также на появление умственной отсталости, психических заболеваний, алкоголизма, преступности и других социальных отклонений. Они пришли к убеждению, что человеческому виду следует заняться своим улучшением и для этого поддерживать воспроизводство людей, обладающих желаемыми качествами (позитивная евгеника), и препятствовать воспроизводству больных, умственно отсталых и калек (негативная евгеника). Гальтона провозгласил основоположником таких идей. В США и Англии были организованы различные учреждения, занимающиеся исследованиями в области евгеники. Многие научные работы, вышедшие из стен этих институтов, находились на низком уровне. Например, утверждалось, что многие свойства человеческой личности, такие, как «буйный характер» и «склонность к

бродажничеству» наследуются в соответствии с законами Менделя. Большинство серьезных генетиков разочаровались в таких исследованиях и постепенно перестали ими заниматься. По разным причинам, включающим дружеские отношения и чувство коллегальности с евгениками, ученые-генетики не обнародовали своего разочарования. Таким образом, сторонники евгеники продолжали с энтузиазмом работать, и эта область науки пользовалась среди широких кругов гораздо лучшей репутацией, чем она того заслуживала. Так, в США в программу многих колледжей были включены курсы евгеники.

Такие тенденции имели несколько важных политических последствий. Во многих штатах Америки были введены евгенические законы, которые давали возможность насильственно стерилизовать людей за наличие у них преступных наклонностей. В то же время вопрос о передаче по наследству таких качеств не имел хорошего научного обоснования. Ситуацию, которая привела к введению таких законов, можно кратко охарактеризовать на примере заявления верховного судьи США Холмса, провозгласившего, что «трех поколений имбецилов достаточно».

Влияние евгеники играло важную роль и в принятии законов, ограничивающих иммиграцию в США. Используя различные аргументы, сторонники евгеники стремились показать, что американцы – выходцы из Северной и Центральной Европы – приносят больше пользы государству, чем выходцы из Южной Европы или Азии. Поскольку было объявлено, что умственные различия обусловлены только генетически, иммиграция из южных и восточных европейских стран и из Азии была резко ограничена. Аналогичные тенденции имели место и в Англии. Лишь немногие специалисты по генетике человека проводили в то время серьезные исследования, процветала активная пропаганда евгеники, которой, в частности, занимался Пирсон, унаследовавший кафедру Гальтона в Лондоне.

Недавно Кевлес опубликовал историю евгеники и генетики человека в англосаксонских странах, охватывающую множество фактов и содержащую их анализ [256].

Его книга – наиболее тщательное и исчерпывающее исследование об использовании концепций евгеники и злоупотреблении ими.

### 1.8.2. Германия [250; 236a]

В Германии евгеника стала называться «расовой гигиеной» (*Rassenhygiene*) по названию книги, опубликованной в 1895 г. Плетцем [277]. Движение под этим названием было связано с мистической концепцией расы, с представлением о превосходстве нордической расы, страхом вырождения человечества в целом и немецкого народа в частности от алкоголизма, сифилиса и за счет увеличения рождаемости слабоумных или людей из низших слоев общества. Некоторые приверженцы таких идей связали их с опасным социально-политическим предрассудком – антисемитизмом. Они предостерегали людей от «загрязнения немецкой крови» иностранной, особенно еврейской. Большинство последователей положений «расовой гигиены» были националистами и выступали против «открытого общества» со свободой личности и демократией. Эти взгляды разделяла значительная часть образованных слоев общества в Германии. Основные евгенические идеи, истоки которых содержатся в теории расизма и других националистических представлениях, часто поддерживались интеллектуалами, обеспокоенными биологическим будущим человечества. Подобные взгляды в Германии проповедовали национал-социалисты [250]. В 1931 г. за два года до прихода Гитлера к власти, германское общество расовой гигиены добавило слово «евгеника» к своему названию. Вскоре все, что делалось в этой области, стало отождествляться с нацистской идеологией.

Ведущие специалисты по генетике человека в Германии так или иначе были причастны к тому, что эта наука была поставлена на службу нацистского государства. Известные ученые, такие, как Фишер, Ленц, Рюдин и фон Фершюер, приняли приход к власти нацистов и, по крайней мере внешне, нацистскую философию. Конечно, пропагандой новой расовой гигиены занимались, в основном, члены нацистской пар-

тии, а не ученые, однако такие люди, как Фишер и фон Фершюер, участвовали в распространении нацистской идеологии. Евреи объявляли «чужеродным генетическим элементом», от которого следовало очистить немецкий народ [286]. В 1933 г. уже был введен закон о стерилизации, и для лиц с обширной группой заболеваний, которые считались наследственными, стерилизация была объявлена обязательной. В то время были учреждены специальные суды, в функцию которых входила интерпретация закона о стерилизации [273]. Законы, предусматривающие добровольную стерилизацию по евгеническим показаниям, примерно в это же время были также введены в Скандинавских странах [273].

Недавно на основании архивных документов начато исследование с целью дать правильную оценку роли немецких специалистов по генетике человека в усилении радикализма и крайних проявлений нацистской философии [272a]. Несомненная роль фон Фершюера и его ассистента Менгеле в использовании близнецового и других генетических методов в концентрационном лагере смерти Аушвиц. У нас нет документов, свидетельствующих о том, что эти люди хоть как-то публично выступили против «милосердного умерщвления» умственно отсталых людей и новорожденных с серьезными врожденными дефектами или массового истребления евреев. На основании новых, ставших известными исторических фактов можно полагать, что фон Фершюер должен был иметь представление об этих событиях, поскольку он продолжал поддерживать контакты с Менгеле и во время пика массовых убийств в Аушвице. «Окончательное решение еврейского вопроса» вылилось в убийство в начале 40-х гг. почти 6 миллионов евреев [282]. Несмотря на отсутствие данных о том, что специалисты по генетике человека поддерживали такой способ решения этой «проблемы», предложенное ими научное обоснование нацистского антисемитизма помогло создать атмосферу, в которой стали возможны массовые убийства. Этот период — одна из наиболее мрачных и скорбных глав истории бесчеловечного отношения человека к человеку.

### 1.8.3. Советский Союз [246, 250]

В Советском Союзе евгеника начала свое существование в 20-е гг. с организации бюро по евгенике, общества евгеников и евгенического журнала. Вскоре обнаружилось расхождение евгенических представлений с государственной идеологией, и в конце 20-х гг. исследования по евгенике были прекращены. Ученые, занимавшиеся подобными исследованиями, оставили эту область и начали работать с растениями и животными.

Интерес к применению в медицине достижений генетики человека сохранялся дольше. В 20-е гг. в Советском Союзе был организован крупный институт медицинской генетики. Его директор Л. Е. Левит погиб в 30-х гг. В эти же годы генетика человека была официально провозглашена нацистской наукой. С приходом к власти в биологической науке Лысенко все генетические исследования были запрещены, включая и исследования по генетике человека. В этой области вообще не проводилось никакой работы до начала 60-х гг., когда пришел конец влиянию Лысенко [255]. Возрождение генетики человека в Советском Союзе шло по пути развития медицинской генетики. В 1964 г. был издан учебник по медицинской генетике Эфроймсона [142a]. В 1969 г. был организован новый Институт медицинской генетики под руководством цитогенетика Бочкова. В этом институте, а также в других местах проводятся исследования по многим направлениям медицинской генетики.

### 1.8.4. Генетика поведения человека

Как на Востоке, так и на Западе продолжают ожесточенные дискуссии о роли генетических факторов в детерминации поведения человека, его интеллекта и личностных особенностей. Некоторые ученые отрицают возможность влияния генетических факторов на нормальное поведение человека, его индивидуальность и интеллект. В более или менее явной форме такой взгляд на генетику присущ некоторым психологам, социологам и даже ряду генетиков, обеспокоенных возможными отрицатель-

ными политическими и социальными последствиями исследований по генетике поведения человека и социальной биологии, цель которых – показать сильное влияние генетических факторов на интеллект и поведение в обществе.

Мы не согласны с теми, кто отрицает какую бы то ни было генетическую обусловленность поведения и социальных особенностей человека. Однако мы также предостерегаем от легкого принятия на веру результатов биометрических сравнений близнецов и других родственников, когда в такого рода исследованиях провозглашается очень высокая степень наследуемости свойств личности. И все же и биологи, и врачи считают, что биологическое разнообразие находится под генетическим контролем, поэтому было бы удивительно, если бы это выглядело иначе для структуры и функции мозга. Различия в структуре и функции мозга, по-видимому, влияют на интеллект, личностные особенности и поведение. Оценить, в какой степени эти свойства обуславливаются генетически, и понять биологическую природу таких различий помогут будущие исследования (см. разд. 8).

## 1.9. Развитие медицинской генетики (с 50-х гг. по настоящее время)

### 1.9.1. Генетическая эпидемиология

В 40–50-е гг. существовало несколько институтов, занимавшихся пионерскими исследованиями в области эпидемиологии генетических заболеваний. Институт Кемпа в Копенгагене, отделы Нила в Энн Арборе, штат Мичиган, и Стивенсона в Северной Ирландии, а позднее в Оксфорде внесли большой вклад в наши представления о распространенности таких заболеваний, их наследовании, гетерогенности и темпах мутирования. В последние годы интерес к исследованиям в этой области возрос, причем особое внимание уделяется подробному анализу распространения заболеваний. Сейчас, по-видимому, пришло время для нового подхода к эпидемиологии генетических заболеваний или клинической популяционной генетике с применением современ-

ных лабораторных методов исследования вместе со ставшими более совершенными методами биометрического анализа [270, 270a].

### 1.9.2. Биохимические методы

После второй мировой войны благодаря появлению биохимических и цитологических методов произошло быстрое возрождение генетики человека. Генетика человека, которой в основном занимались ученые, использующие статистические методы, вошла в основной поток медицинских исследований. Полинг показал, что серповидноклеточная анемия – молекулярная болезнь [1260], и его открытие послужило толчком к развитию подобных исследований. Наличие аномальных гемоглобинов предоставило возможность для детального изучения последствий мутаций. Генетический код был выявлен у столь далеко отстоящих друг от друга организмов, как вирусы и человек. Было обнаружено, что мутации могут приводить к аминокислотным заменам, сдвигать рамку считывания или вызывать обрыв аминокислотной цепи в результате делеции. При помощи методов биохимии и молекулярной генетики удалось определить нуклеотидную последовательность глобинового гена. Было показано, что причины многих врожденных нарушений метаболизма – различные дефекты ферментов, возникающие вследствие мутаций, изменяющих их структуру. Метгемоглобинемия, возникающая вследствие недостатка диафоразы, и болезни накопления гликогена относятся к числу первых обнаруженных болезней, вызываемых дефектами ферментов (разд. 4.1).

### 1.9.3. Индивидуальные биохимические различия

Изучение вариантов фермента глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы (G6PD) помогло развить представления о значительной мутационной изменчивости. Наличие индивидуальных биохимических особенностей объясняет различную реакцию разных людей на лекарства; так возникла фармакогенетика [269]. Выраженная биохимическая

гетерогенность ферментов и белков человека впервые была продемонстрирована Харрисом [253]. Уникальность человека, которая выражается в неповторимости внешности каждого индивида, проявляется и на биохимическом, и иммунологическом уровнях. Здесь так же, как и в некоторых других областях исследований (например, при изучении вариантов гемоглобина и механизма определения пола), данные, полученные при обследовании людей, привели к открытию общих важных биологических закономерностей. Роль полиморфизма для структуры популяций, включая человеческую, широко изучается популяционными генетиками. Гипотеза о том, что полиморфизм может быть генетическим субстратом, воздействие отбора на который формирует восприимчивость или устойчивость к заболеваниям, привела к возникновению экологической генетики [271]. Исследование комплекса генов гистосовместимости стало основой для понимания того, почему несколько генов со сходными функциями могут находиться в составе кластеров, где они тесно сцеплены. Изучение этого локуса имеет большое значение для понимания механизмов восприимчивости ко многим аутоиммунным и некоторым другим заболеваниям. Совсем недавно значительное и никак внешне не проявляющееся генетическое разнообразие было продемонстрировано на уровне ДНК [328].

#### ***1.9.4. Цитогенетика, генетика соматических клеток, пренатальная диагностика***

Совершенствование цитогенетических методов сделало возможным их применение для изучения многих типов врожденных аномалий и интессексов. Было показано, что возникновение специфической формы рака, хронического миелолейкоза, вызывается наличием уникальной хромосомной aberrации. Метод дифференциальной окраски хромосом, разработанный Касперсоном в 1969 году, сделал возможным идентификацию каждой хромосомы человека, в результате чего цитогенетические методы

приобрели более высокую разрешающую способность.

Вскоре и биохимические, и цитогенетические методы стали вместе использоваться в генетике соматических клеток. Появилась возможность выявлять специфические дефекты ферментов в отдельных клетках, растущих в культуре ткани. Разработка Генри Харрисом [254] и Эфрусси [247] методов гибридизации клеток человека с мышинными клетками позволила установить локализацию многих генов и построить хромосомные карты человека, которые уже соперничают в своей полноте с аналогичными картами для дрозофилы (разд. 3.4.3) и мыши (приложение 9).

Развитие генетики соматических клеток привело к появлению в конце 60-х гг. пренатальной диагностики, основанной на амниоцентезе во второй трети беременности. Благодаря этой процедуре можно получить культуру эмбриональных амниотических клеток и с ее помощью осуществлять цитогенетические и биохимические исследования генотипа эмбриона, определять его пол и диагностировать различные внутриутробные нарушения. В начале 80-х гг. была разработана и широко используется биопсия ворсин хориона — исследование, которое можно проводить уже в первой трети беременности. Открытие того факта, что дефекты нервной трубки связаны с увеличением содержания  $\alpha$ -фетопротеина в амниотической жидкости, позволило осуществлять внутриматочную диагностику важной группы врожденных дефектов [242]. Разработка метода фетоскопии сделала возможной пункцию сосудов плода для диагностики гемоглобинопатий и даже визуальное выявление некоторых пороков развития эмбриона. К арсеналу методов диагностики добавился ультразвуковой метод исследования плаценты и выявления аномалий плода. Этот метод быстро совершенствуется и все чаще позволяет проводить фенотипическое обследование плода. Поскольку ультразвуковой метод является методом наружного исследования, он все больше и больше вытесняет фетоскопию.

*Клиническая генетика.* Клиническая генетика бурно развивается [264]. Органи-



зуются специальные клиники, где осуществляется диагностика наследственных заболеваний и можно получить генетическую консультацию. Выявляется значительная гетерогенность наследственных болезней. Основная задача генетических консультаций сейчас состоит в том, чтобы обеспечить пациентов и их семьи сведениями о риске рождения ребенка с такой же аномалией и о контроле деторождения [129]. Во многих странах осуществляются программы по проверке всех новорожденных на наличие фенилкетонурии, а другие программы скрининга, например скрининг болезни Тей-Сака, проходят всестороннюю проверку [238] (разд. 9.1.2).

Наряду с клиническими достижениями были и неудачи: затормозился сам процесс развития научных идей, однако появление новых методов исследования ДНК (разд. 2.3) быстро изменило эту ситуацию. Фундаментальные исследования по генетике человека в настоящее время интенсивно осуществляются различными учеными, такими, как специалисты по биологии клетки, молекулярные биологи, биохимики [272]. В последние годы генетику человека все больше отождествляют с медицинской генетикой.

### **1.9.5. Методы исследования ДНК в медицинской генетике**

Достижения молекулярной генетики и развитие методов исследования ДНК быстро нашли применение для решения практических задач медицинской генетики. Поскольку наиболее существенные успехи в изучении генетических систем достигнуты в случае глобиновых генов, полученные данные нашли непосредственное применение для диагностики гемоглобинопатий. При этом было использовано несколько подходов. Было обнаружено, что наличие фенотипически не проявляющихся наследуемых различий в последовательности оснований ДНК носит общий характер. Это предполагает существование значительного полиморфизма ДНК, который можно изучать. Точно так же как каждое человеческое лицо уникально, каждый человек (кроме однояйцевых близнецов) имеет уникальную по-

следовательность оснований ДНК. Отличительные особенности последовательностей оснований ДНК используются в генеалогических исследованиях как генетические маркеры, позволяющие установить наличие тесно сцепленных с ними генов, вызывающих моногенные заболевания. Прямая диагностика генетических заболеваний осуществляется благодаря использованию коротких последовательностей нуклеотидов («зондов»), гомологичных мутировавшим участкам, которые нужно найти. Иногда вызванный мутацией дефект можно обнаружить с помощью специфической рестриктазы. Разные мутации ДНК одного и того же локуса обычно приводят к возникновению фенотипически идентичных заболеваний. Это затрудняет прямую диагностику путем исследования ДНК без генеалогического анализа, за исключением тех случаев, когда известна специфическая мутация, вызывающая заболевание.

В настоящее время предпринимаются попытки сконструировать карту генома человека. Несколькими сотнями маркеров на ДНК, равномерно распределенных по всем хромосомам, — это «вехи», необходимые для диагностики моногенных заболеваний, которые могут помочь определить вклад специфических генов в развитие мультифакториальных заболеваний.

Исследуются и возможности использования ДНК для лечения наследственных заболеваний. В настоящее время усилия в этой области направлены на встраивание ДНК нормальных генов в соматические клетки, такие, как клетки костного мозга (генная терапия). В последние годы осуществляются эксперименты *in vitro* и на животных, где в качестве векторов для введения генов используются ретровирусы. До весны 1985 года такие исследования на людях не проводились. Более ранние попытки осуществления генной терапии для лечения аргининемии с использованием вируса папилломы Шоупа и  $\beta$ -талассемии с использованием  $\beta$ -глобиновых генов были преждевременными и не дали клинического эффекта. Применение генной терапии половых клеток, то есть встраивание нормальных генов в дефектные половые клетки, оплодотворенные яйцеклетки или эмбрионы

на ранних стадиях развития для лечения наследственных заболеваний,—дело далекого будущего.

### *1.9.6. Нерешенные проблемы*

Генетика человека большинством своих достижений обязана тому, что она опиралась на законы Менделя и использовала методы, разработанные в различных областях биологии. Такие важные проблемы, как регуляция активности генов, особенно во время эмбрионального развития, регуляция деятельности иммунной системы и работы мозга выходят за рамки имеющихся фундаментальных представлений, однако эти рамки постоянно расширяются. Генетика человека вносит вклад в решение этих проблем путем исследования генетического разнообразия и заболеваний с помощью новейших методов; чтобы понять причины наследственных болезней, необходимо ра-

зобраться в механизмах действия гена во время эмбрионального развития, выявить специфические гены, ответственные за возникновение различных заболеваний.

На первый взгляд история генетики человека за предыдущие тридцать лет выглядит как непрерывная цепь успехов. Читатель может прийти к выводу, что последнее поколение специалистов по генетике человека уже поставило благородную науку на службу человечеству. Однако как оценят потомки наши попытки поставить генетику человека на службу человечеству таким образом, как мы это понимаем? Будут ли они видеть этические различия между избирательным прерыванием беременности в случае эмбриона с синдромом Дауна и уничтожением новорожденных с грубыми пороками развития? Не скатываемся ли мы опять вниз по «наклонной плоскости?»

## 2. Хромосомы человека

### 2.1. Цитогенетика человека – запоздалое, но счастливое рождение

Хромосомная теория менделевского наследования была сформулирована в 1902 г. Саттоном и Бовери. В том же году Гэррод, установив аутосомно-рецессивный тип наследования алкаптонурии и обсуждая в связи с этим проблему биохимической индивидуальности вообще, выдвинул концепцию «врожденных ошибок метаболизма». Вскоре после этого было показано, что многие болезни человека наследуются как простые менделевские признаки. Десятилетие спустя Бриджес (1916) [311] описал первый случай аномального распределения хромосом в мейозе у дрозофилы и назвал это явление «нерасхождением». Цитогенетика животных и растений расцвела в первой половине века: почти все важные явления в области цитогенетики были открыты именно в этот период. Более того, цитогенетические методы помогли прояснить многие закономерности мутационного процесса.

Можно было бы ожидать, что результаты и концепции общей цитогенетики довольно быстро найдут приложение в цитогенетике человека, способствуя объяснению целого ряда явлений, генетических по своей природе, но трудно согласующихся с законами Менделя. Однако это внедрение задержалось вплоть до 50-х гг. Реальное развитие цитогенетики человека начинается только с того времени, когда Тио и Леван (1956) [532], а также Форд и Хамертон (1956) [351] установили, что диплоидное число хромосом у человека равно 46. Лежен (1959) [417] открыл трисомию по 21-й хромосоме при синдроме Дауна, а Форд с сотр. (1959) [352] и Джекобс и Стронг (1959) [395] сообщили о первых цитогенетических находках при синдромах Тернера и Клайнфельтера.

Позднее рождение цитогенетики человека обычно объясняют несовершенством методов приготовления препаратов хромосом. Действительно, запутанные хромосомные клубки на старых иллюстрациях наглядно свидетельствуют о тех трудностях, с которыми сталкивались первые исследователи, пытавшиеся подсчитать число хромосом в клетках человека. Трудно представить, сколько лет многие аномалии человека ожидали бы своего объяснения на основе цитогенетики, если бы развитие соответствующих методов задержалось еще дольше. Ведь были специалисты по генетике человека, которые предполагали, что определенные нарушения могут быть обусловлены хромосомными aberrациями. Например, еще в 1932 г. Ваарденбург [537] писал по поводу болезни Дауна:

«Наличие целой группы симптомов у таких больных особенно привлекает внимание. Я хотел бы предложить цитологам проверить, не встречаемся ли мы здесь с примером определенной хромосомной aberrации у человека. Почему бы ей не возникать иногда у человека и почему бы ей не быть, если она не летальна, причиной глубокой аномалии конституции. Нужно ответить на вопрос, не лежит ли в основе монголизма «хромосомная нехватка» или «нерасхождение», или, наоборот, «хромосомная дупликация». Моя гипотеза имеет по крайней мере то преимущество, что ее можно проверить. Если она верна, становится понятным и влияние возраста матери...»

Он отметил тогда, что очень редкие семейные случаи синдрома Дауна и показатели конкордантности монозиготных близнецов вполне совместимы с его гипотезой. Будучи практикующим врачом –

офтальмологом, Ваарденбург стал одним из выдающихся специалистов по наследственным глазным болезням, но самостоятельно проверить свои предположения он не имел возможности. Не нашел он поддержки и у цитогенетиков своего времени. Искра была брошена, но огонь не разгорелся.

### 2.1.1. История развития цитогенетики человека

Первые наблюдения митотических хромосом человека [522]. Можно сказать, что исследования по цитогенетике человека начались с работ Арнольда (1879) [297] и Флемминга (1882) [348], которые впервые наблюдали митотические хромосомы человека. В последующие годы появилось много сообщений, в которых приводились различные оценки числа хромосом у человека. Среди этих ранних исследований выделяется работа Винивортера (1912) [543]. Он исследовал гистологические срезы тестикул от четырех человек разного возраста – 21, 23, 25 и 41 год. Из фиксированного материала были приготовлены срезы только одной толщины – 7,5 мк, что недостаточно для корректного подсчета хромосом. В этих препаратах исследовали 32 сперматогонияльных митоза. В 29 из них Винивортер насчитал 47 элементов, в двух других – 46 и в одном – 49 (рис. 2.1). Кроме этого было обнаружено 60 клеток на стадии диплотеи, в 57 из них выявлено 24 элемента, в двух – 25 и в одной – 23. Он

наблюдал в диплотеи даже половой бивалент, но расценил его как одну хромосому, сместившуюся к полюсу. Винивортер пришел к выводу, что у мужчины должно быть 47 хромосом, а у женщины – 48. Данные относительно оогенеза было еще меньше, поскольку ему удалось обнаружить только три четких оогонияльных митоза в материале от четырехмесячного плода. Результаты анализа подтвердили предположение о наличии в клетках женщины 48 хромосом.

Существенным импульсом для развития цитогенетики человека явились данные Пэйнтера (1921, 1923) [467]. Он исследовал тестикулы трех душевнобольных (причиной удаления тестикул во всех случаях было «выраженное отсутствие самоконтроля в сочетании с определенной степенью помешательства»). Основные результаты были получены при исследовании препаратов от двух больных. В предварительном сообщении (1921) Пэйнтер определил число хромосом как 46 или 48, но в заключительной статье (1923) он пришел к выводу о наличии в клетках человека 48 хромосом. В первом мейотическом делении Пэйнтер обнаружил половой бивалент, состоящий из X и Y хромосом, которые в анафазе перемещались к противоположным полюсам (рис. 2.2). В последующие годы цифра 48 подтверждалась многими авторами [379]. Дальнейшему прогрессу препятствовали две технические трудности.

1. Техника получения срезов была такова, что готовые препараты, как правило, содержали разрушенные митозы.

2. Хромосомы накладывались одна на другую, образуя клубки, плохо поддающиеся анализу.

Эти трудности в конце концов были преодолены благодаря: а) использованию суспензий интактных клеток, из которых можно было получать давленные препараты (или просто высушивать на воздухе) без приготовления гистологических срезов; б) кратковременной обработке клеток гипотоническим раствором, в результате чего клетки набухают и лопаются, а хромосомы свободно распределяются в препарате.

Метод гипотонического шока существенно облегчил подсчет хромосом [384,



**Рис. 2.1.** Одно из первых изображений митоза в сперматогониях [543].



**Рис. 2.2** Половой бивалент в первой анафазе мейоза [467].



**Рис. 2.3.** Метафазная пластинка культивируемых *in vitro* фибробластов легкого эмбриона человека. Фотография из первого сообщения, в котором констатировалось наличие в клетках человека 46 хромосом [532].

386]. (Интересно заметить, что данные Пэйнтера о наличии у человека 48 хромосом настолько запечатались в умах исследователей, что даже спустя 30 лет в первых публикациях по цитогенетике человека с использованием новой техники фигурировала цифра 48 [384].)

*Старая ошибка исправлена, началась новая эра* [352]. Летом 1955 г. Леван (шведский цитогенетик) во время своего визита в лабораторию Хсю в Нью-Йорке обучился методике получения давленных препаратов с использованием гипотонического шока. Он и Тию усовершенствовали затем этот метод, сократив время гипотонической обработки и добавив обработку колхицином — химическим веществом, которое, разрушая нити веретена деления, останавливает митоз на стадии метафазы и увеличивает, таким образом, количество клеток, пригодных для подсчета хромосом. Эти авторы исследовали фибробласты легкого, полученные от четырех эмбрионов человека. Изучив 261 метафазную пластинку, к своему удивлению, они обнаружили, что в большей части клеток присутствует 46 хромосом. На рис. 2.3 в качестве примера

показана одна метафаза из их работы. Обсуждая эти данные, Тию и Леван упомянули о работе трех шведских цитогенетиков, которые за год до них изучали митоз в клетках печени абортированных эмбрионов человека и прекратили свои исследования, поскольку не могли обнаружить 48 хромосом: во всех клетках они находили только 46 хромосом. Тию и Леван были весьма осторожны в своих выводах:

«Мы не хотим утверждать, что число хромосом у человека составляет  $2n = 46$ , пока не будет проведен тщательный анализ числа хромосом в митозе сперматогониев, однако именно такой вывод следует сделать из наших наблюдений».

Необходимое доказательство вскоре было получено Фордом и Хамертоном (1956) [351]. Они исследовали препараты из тестикул трех мужчин пожилого возраста. В подавляющем большинстве клеток, находящихся на стадии метафазы I мейоза, было найдено 23 бивалента, что соответствовало результатам Тию и Левана. Хотя сперматогониев, делящихся митотически, было обнаружено очень мало, анализ четких препаратов подтвердил, что число хромосом равно 46. По существу эти результаты озаменовали начало развития кли-

нической цитогенетики, хотя до описания первого аномального кариотипа у человека оставалось еще почти три года.

*Решение старой загадки: синдром Дауна обусловлен трисомией по 21 хромосоме.* Предположение Ваарденбурга было окончательно подтверждено весной 1959 г., когда Лежен с соавт. [417] опубликовали результаты изучения хромосом в культивируемых фибробластах кожи от девяти детей с болезнью Дауна. Было исследовано 57 диплоидных клеток. Во всех клетках оказалось 47 хромосом. Авторы описали лишнюю хромосому как маленькую и «телоцентрическую». В качестве наиболее подходящего объяснения наличия дополнительной хромосомы было выдвинуто предположение о нерасхождении гомологов в мейозе.

*Первые сообщения о трисомии и моносомии по половым хромосомам.* Еще в 1949 г. Барр и Бертрам [298] открыли «X-хроматин» — плотное овальное образование размером 0,8–1,1 мкм, которое обычно локализуется на периферии интерфазного ядра у самок млекопитающих и отсутствует у самцов. Это открытие было сделано случайно. Авторы вовсе не интересовали половые различия, они изучали действие утомления на центральную нервную систему кошек. Однако то, что сначала представлялось характерным только для нейронов кошек, оказалось нормальным признаком, присутствующим в клеточном ядре самок всех млекопитающих, в том числе и женщин. Гомологичные структуры, «барабанные палочки» (drumsticks), были обнаружены Дэвидсоном и Смитом (1954) [331] в ядрах полиморфноядерных лейкоцитов. Естественно, что вслед за этим необходимо было ответить на вопрос, присутствует ли X-хроматин в клетках больных с нарушениями полового развития. Оказалось, что большинство больных с синдромом Клайнфельтера (разд. 2.2.3.2), несмотря на преобладание в фенотипе мужских черт, являются хроматин-положительными, в то же время большинство больных с синдромом Тернера (разд. 2.2.3.3) являются хроматин-отрицательными, что не согласуется

с их женским фенотипом. Следовательно, если X-хроматин имеет прямое отношение к X-хромосоме, то эти данные указывают на аномалию по X-хромосоме при указанных синдромах.

Еще в 1931 г. Гольдшмидт предложил метод определения генотипического пола у интерсексов. Поскольку прямых методов изучения половых хромосом не существовало, перспективным казалось исследование дальтонизма, обычно наследуемого как X-сцепленный признак. В двух выборках, охватывающих 89 случаев синдрома Клайнфельтера, у трех больных были обнаружены соответствующие аномалии цветового зрения (разд. 3.5.3) [462; 478]. Такая частота (3,4%) не вполне соответствовала ожидаемой для мужчин (7–9%), но, с другой стороны, она была намного выше, чем ожидалось для женщин (менее 1%). Если бы эти три пациента имели нормальный женский кариотип 46, XX, они должны были бы получить по одной из X-хромосом от каждого из родителей. Поскольку дальтонизм проявляется только у гомозиготных женщин, ожидалось, что отцы этих больных также имеют аномалию цветового зрения. В действительности же двое обследованных отцов дальтонизмом не страдали. Эти факты прояснились, когда Джекобс и Стронг (1959) [395], исследуя хромосомы в клетках костного мозга больных с синдромом Клайнфельтера, обнаружили 47 хромосом, причем родители больных имели нормальный кариотип. Дополнительная хромосома принадлежала к группе, включающей X-хромосому. Кариотип был идентифицирован предположительно как XXУ. У двух больных с синдромом Клайнфельтера и аномалией цветового зрения (отцы которых нормально различали цвета) обе X-хромосомы были явно материнского происхождения, попавшими в одну половую клетку вследствие мейотического нерасхождения (разд. 5.1.2.3).

Вскоре после этого первого сообщения наличие XXУ-кариотипа при синдроме Клайнфельтера было подтверждено многими авторами. В настоящее время общеизвестно, что именно этот кариотип является стандартным при данном заболевании. Изучение хромосомного набора больных с

синдромом Тернера (при котором также существует расхождение между ядерным и фенотипическим полом) продемонстрировало наличие в их кариотипе 45 хромосом, причем половые хромосомы были представлены единственной хромосомой X. Третья аномалия – трисомия по X-хромосому была обнаружена у женщины с умеренной умственной отсталостью и дисфункцией половых желез [393].

Возможности для изучения генетической детерминации пола у человека, которые открываются благодаря существованию аномалий половых хромосом, будут обсуждаться в разд. 2.2.3.

*Рождение цитогенетики человека 1956–1959 гг.: научная революция.* Мы уже писали о том, что существует различие между «нормальным развитием» науки и периодически возникающими «научными революциями» [257]. Научная революция характеризуется появлением новой теории, которая первоначально находит поддержку лишь у небольшой группы ученых. Если эта новая теория обнаруживает свое преимущество, предлагая решение ранее неразрешимых проблем и ставя новые, более сложные задачи, она признается научным сообществом и каждый исследователь в данной области включается в разработку различных ее аспектов.

Развитие цитогенетики в 1956–1960 гг. явилось именно такой «революцией»: возникла новая область исследований. Теперь любые рассуждения о регуляции активности генов, их сцеплении, структуре генетического материала, спонтанных и индуцированных мутациях, популяционной генетике, эволюции человека, а также о практическом использовании генетических знаний в профилактике наследственных болезней могли оказаться устаревшими без учета данных и новых представлений цитогенетики человека. Правда, с точки зрения экспериментальной генетики цитогенетика человека выглядела скромно: многие её достижения можно было рассматривать как запоздалое приложение к человеку тех идей, которые были известны давно, иногда более полувека тому назад. Однако

в настоящее время цитогенетика человека достигла высокого уровня и находится на переднем крае фундаментальной цитогенетики.

Чем же можно объяснить революцию в этой области биологии? Как это часто бывает, причиной ее были методические усовершенствования: гипотоническая обработка улучшила распределение хромосом в препарате, а вместо тканевых срезов стали анализировать отдельные клетки. Важно также, что «нашлись» ученые, которые сумели реализовать возможности, предоставленные новыми методами.

*Группа исследователей, совершивших революцию в цитогенетике человека.* Возможности новых методов были реализованы в два этапа. Тибо и Леван [532] открыли точное число хромосом, но, будучи слишком далекими от медицины, они не связали свое открытие с патологией человека. На этом первом этапе наиболее удачное взаимодействие концепций общей цитогенетики и медицины было достигнуто группой британских ученых. Больших успехов в этот период достиг и французский исследователь Лежен [417]. Как правило, в ходе научной революции группа ученых, работающих на основе новой концепции, создает свою собственную сеть научного взаимодействия. С этой точки зрения ранний период развития цитогенетики человека представляет особый интерес для истории науки. Важно провести такое исследование как можно скорее, пока многие из первооткрывателей еще активно работают. Один из них, Харнден, предоставил нам следующую интересную информацию.

Ведущими фигурами в британской группе были Форд в Харуэлле и Браун в Эдинбурге. Оба работали в подразделениях, финансировавшихся Медицинским исследовательским советом (MRC). Интерес Форда к хромосомам человека возник в связи с его исследованиями опухолей у мышей и мейотических клеток. Браун стал изучать хромосомы человека, поскольку он как эпидемиолог ощущал необходимость сочетания эпидемиологических и фундаментальных биологических исследований. Вскоре эти группы установили контакт.

Патриция Джекобс, цитогенетик (немедик), была направлена Брауном к Форду. Работая в его лаборатории, она сумела приспособить метод кратковременной культуры клеток костного мозга для исследований хромосом человека. Харнден в это же время разработал методику культивирования фибробластов кожи. Он считал ее более удачной, чем культивирование клеток костного мозга. Единбургская группа работала при больнице, и ей был доступен клинический материал. По-видимому, именно здесь врач Стронг, в настоящее время профессор медицины, высказал идею исследовать хромосомы при синдроме Клайнфельтера. В Харуэлле, где работал Форд, не было прямой связи с больницей. Однако вскоре такой контакт был установлен (Guy's hospital), и Полани предложил исследовать синдром Тернера. Сотрудничество между этими двумя группами было очень интенсивным. Взаимодействие осуществлялось с помощью писем, телефонных переговоров. Каких-либо особых совещаний не проводилось. Специалисты по генетике человека Полани, Пенроуз и Эдвардс посылали материал в Харуэлл и консультировали по медицинским вопросам лабораторных работников. Идея исследовать хромосомный набор больных с синдромом Дауна пришла к английским ученым как следующий естественный шаг после выявления хромосомных аномалий при синдромах Клайнфельтера и Тернера. По-видимому, эта идея возникла независимо в Харуэлле и в Единбурге, и обе группы успели значительно продвинуться в этом направлении до того, как узнали о работе Лежена.

Успех двух британских групп стал возможным благодаря сотрудничеству ученых различных специальностей. Тесный контакт поддерживался в течение нескольких лет, пока объединявшая эти группы концепция набирала силу. Затем контакт стал медленно ослабевать. Однако в то же самое время две другие группы цитогенетиков независимо осознали преимущество новых методов: их возглавляли Лежен во Франции и Фраккаро и Линдстен в Швеции. Последние приступили к изучению синдрома Тернера, не зная об исследованиях в Харуэлле.

*Наиболее важные этапы развития цитогенетики человека.*

- 1956 г. Тию и Леван, Форд и Хамертон установили, что диплоидные клетки человека содержат 46 хромосом.
- 1959 г. Лежен открыл трисомию 21 при синдроме Дауна; Форд с сотр., а также Джекобс и Стронг обнаружили кариотип XXУ при синдроме Клайнфельтера и кариотип XO при синдроме Тернера.
- 1960 г. Мурхед с сотр. [447] разработали метод приготовления препаратов хромосом из кратковременной культуры лимфоцитов; Патау с сотр. [472] и Эдвардс с сотр. [343] описали две аутосомные трисомии, позднее идентифицированные как трисомии 13 и 18; Ноуэлл и Хангерфорд описали «филадельфийскую» хромосому при хроническом миелолейкозе [1584].
- 1963 г. Лежен с сотр. [418] описали первый синдром, связанный с хромосомной делецией, — синдром «кошачьего крика» («cri du chat»).
- 1964/65 гг. Шрёдер с сотр. (1964) [515] и Джерман с сотр. (1965) [359] описали генетически детерминированную хромосомную нестабильность при анемии Фанкони и синдроме Блума; Джекобс с сотр. [394] предположили связь между кариотипом XYУ и криминальной психопатией.
- 1968/70 гг. Разработаны методы дифференциального окрашивания хромосом. Это позволило однозначно идентифицировать все хромосомы человека [320].

*Клиническая цитогенетика — наиболее популярная специальность в генетике человека. Начиная с 1960 г. цитогенетика человека, и в особенности клиническая цитогенетика, стали наиболее популярными разделами генетики человека. Конечно, это можно*

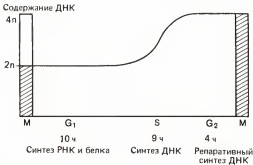


объяснить тем, что была вскрыта причина многих прежде необъяснимых пороков развития. Другое объяснение заключается в том, что врачи предпочитают увидеть причину болезни своими глазами, и поэтому понятия формальной и популяционной генетики по большей части их не привлекают. Понятно также, что постепенное уменьшение популярности клинической цитогенетики в последующие годы объяснялось отсутствием какого-либо практического значения ее результатов для лечения или профилактики, не считая диагностики и генетическое консультирование. Однако ситуация резко изменилась, когда появилась возможность дородовой диагностики.

### 2.1.2. Нормальный кариотип человека в митозе и мейозе

#### 2.1.2.1. Митоз

**Клеточный цикл.** На рис. 2.4 представлена схема клеточного цикла делящейся клетки млекопитающих. Приведенные временные интервалы хотя и относятся конкретно к клеткам гепатомы крысы *in vitro*, но для других клеток они почти такие же. На стадии  $G_1$  синтезируются белки и РНК, и клетка готовится к репликации ДНК, которая происходит в S-фазе. Как показали



**Рис. 2.4.** Клеточный цикл делящейся клетки млекопитающего. В фазе  $G_1$  диплоидный набор хромосом ( $2n$ ) представлен однократно. После синтеза ДНК (фаза S) диплоидный хромосомный набор удвоен ( $4n$ ). М - митоз; заштрихованные столбики характеризуют содержание ДНК во время митоза. Подробности см. в тексте.

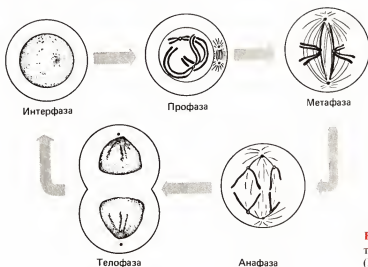


**Рис. 2.5.** Сестринские хроматидные обмены в нормальной метафазе человека. Локализация обменов указана стрелками. (Courtesy of Dr. T.M.Schroeder-Kurth).

опыты с  $^3H$ -тимидином, поступающим в клетку в разное время на протяжении S-фазы, различные участки хромосом реплицируются асинхронно. С помощью радиоавтографии можно идентифицировать те участки хромосом, которые еще не завершили репликацию и поэтому включают меченый предшественник ДНК. Во время фазы  $G_2$ , когда клетка готовится к митозу (М), происходит «внеплановый», или репаративный, синтез. На стадии  $G_1$  материал каждой хромосомы диплоидного набора ( $2n$ ) представлен однократно. На стадии  $G_2$  каждая хромосома уже удвоена и два идентичных составляющих ее элемента называются сестринскими хроматидами. (Более правильным был бы термин «сестринские хромосомы», но терминология сложилась в то время, когда были известны только морфологические, а не биохимические аспекты митоза.) Поскольку материал каждой хромосомы теперь удвоен, то для клетки в целом имеет место ( $2 \times 2n = 4n$ )<sup>1)</sup>.

Во время и после репликации две сестринские хроматиды обмениваются сег-

<sup>1)</sup> Строго говоря, это так, но ситуацию в  $G_2$  принято обозначать в терминах числа хромосом как  $2n = 46$  и в терминах содержания ДНК как  $4c$  ДНК. — Прим. ред.



**Рис. 2.6.** Митоз. Изображены только 2 хромосомы из 46. (Buselmaier, 1976.)

ментами, так что обе хроматиды митотической хромосомы содержат участки другой хроматиды (сестринские хроматидные обмены, СХО). В этом можно убедиться с помощью специального окрашивания хромосом после обработки клеток аналогом тимидина – бромдезоксисуридином (БДУ) (рис. 2.5) [411].

**Митоз.** Фазы митоза изображены на рис. 2.6. Митоз начинается с момента конденсации хроматина (рис. 2.6, А; ранняя профаза). К концу профазы хромосомы становятся отчетливо видимыми, обе сестринские хроматиды тесно прилегают одна к другой. В этот момент ядерная мембрана растворяется, ядрышко исчезает и формируется веретено деления. Оно состоит из микротрубочек, в состав которых входит белок тубулин. Микротрубочки обнаруживаются под микроскопом как нити веретена. Они соединяют центромерные районы хромосом с полюсами веретена – центриолями. Профаза завершается исчезновением ядерной мембраны, клетка вступает в метафазу. Центромеры всех хромосом располагаются в экваториальной плоскости между двумя полюсами. Хроматиды каждой хромосомы начинают отделяться одна от другой, оставаясь соединенными только в центромерной

области. Наконец разделяются и центромеры, и сестринские «полухромосомы» расходятся к противоположным полюсам с помощью нитей веретена. Функцию микротрубочек веретена можно продемонстрировать, обработав делящиеся клетки колхицином. Колхицин препятствует агрегации молекул тубулина, разрушает микротрубочки, что приводит к дезорганизации хромосом в экваториальной пластинке и подавлению их анафазного движения к полюсам, хотя собственно разделение хроматид происходит и в присутствии колхицина. В последней фазе митоза, телофазе, хромосомы деконденсируются, нити веретена дезинтегрируются (микротрубочки при этом сохраняются в клетке), образуется новая ядерная мембрана и начинается клеточное деление. Наиболее подходящей стадией для исследования хромосом является метафаза.

#### 2.1.2.2. Подготовка и окрашивание препаратов метафазных хромосом [201; 88; 406]

Препараты хромосом можно приготовить из всех тканей и клеточных суспензий, содержащих делящиеся клетки. У человека в большинстве случаев используют препараты из клеток костного мозга, кратковременной культуры крови или из длительной культуры фибробластов. Наи-

более простым и доступным является метод культивирования клеток крови. Пункция костного мозга или биопсия кожи для культивирования фибробластов технически сложнее, и к тому же аспирация костного мозга — весьма неприятная процедура. Препараты из костного мозга имеют, однако, то преимущество, что дают возможность изучать митозы *in vivo*.

В крови здоровых людей (или больных, но не лейкозами) нет делящихся клеток. Однако митоз этих клеток можно стимулировать искусственно, например обработав их фитогемагглютинином (ФГА). Спустя один час после инкубации с ФГА в малых (Т-) лимфоцитах отмечается синтез РНК, а через 24 ч начинается синтез ДНК. Суспензию лейкоцитов выращивают в культуральной среде 72 ч и затем готовят препараты хромосом. Чтобы остановить клетки в прометафазе, подавляют образование веретена деления веществами с колхициноподобным действием, предпочтительно колцемидом. В специальных условиях время культивирования можно сократить до 48 ч. Для свободного распределения хромосом в плоскости препарата клетки обрабатывают в течение 10–30 мин гипотоническим раствором, а затем фиксируют смесью этанола и уксусной кислоты. Каплю такой суспензии наносят на стекло, высушивают на воздухе и окрашивают.

Препараты клеток костного мозга получают из материала пункции грудины или подвздошной кости. Клетки культивируют только 2 ч с колцемидом. Процедура приготовления препаратов несколько отличается от процедуры, описанной выше. Культуру фибробластов получают из материала биопсии кожи. Ее измельчают и выращивают в культуральной среде таким образом, чтобы кусочки были прикреплены к поверхности культурального сосуда. Через 10 дней клетки начинают расти по этой поверхности, через 21 день готовят суспензию и делают препараты.

**Окрашивание.** Наиболее простой способ окрашивания — красителем Гимза или 2%-ным ацетоорсеином, или 2%-ным ацеткармином. Эти красители окрашивают хромосомы целиком, равномерно и интенсивно. Для некоторых диагностических целей (например, для выявления численных аномалий хромосом) этот метод вполне достаточен. Для получения более детальной картины структуры хромосом и идентификации отдельных хромосом или их сегментов используются различные способы дифференциального окрашивания.

**Дифференциальное окрашивание.** Многие исследователи отмечали в хромосомах, окрашенных

по обычной методике, некоторую неоднородность в плотности окрашивания отдельных участков. Этот факт оставался без внимания, пока Касперсон с сотр. (1968) [320] не обнаружили, что после обработки акрихин-ипритом флуоресценция по длине хромосомы распределена не равномерно, а в виде сегментов. Затем Касперсон с сотр. показали, что каждую хромосому человека можно надежно идентифицировать с помощью такого метода окрашивания. Вскоре после этого стало ясно, что очень сходный рисунок сегментации можно получить и с помощью красителя Гимза, если дополнить процедуру окрашивания некоторыми приемами. Многие исследователи предложили методики для окрашивания прицентромерных районов. Было показано, что частичная тепловая денатурация также приводит к выявлению сегментов в хромосомах. На Парижской конференции по стандартизации и номенклатуре хромосом человека в 1971 г. [468] полученные к тому времени данные были сопоставлены, и оказалось, что все методы выявляют в принципе одни и те же структуры, но каждый из них специфичен в отношении определенных хромосомных сегментов.

**Общепринятые методы** [341; 200]. Различные типы сегментов обозначают по методам, с помощью которых они выявляются наиболее отчетливо:

- а) Q-сегменты (quinacrine, акрихин) — участки хромосом, флуоресцирующие после окрашивания акрихин-ипритом или сходными соединениями.
- б) G-сегменты (Giemsa, Гимза) выявляются при окрашивании красителем Гимза в сочетании с дополнительными процедурами, которые способствуют тому, что краситель адсорбируется наиболее интенсивно на определенных участках. Q- и G-сегменты идентичны. В большинстве лабораторий в повседневной работе предпочитают G-метод, поскольку он не требует использования флуоресцентного микроскопа и окрашенные препараты можно длительно хранить. Однако специфическое преимущество Q-метода состоит в том, что он позволяет даже в интерфазном ядре идентифицировать Y-хромосому человека по яркой флуоресценции.
- в) R-сегменты (reverse, обратные) окрашиваются после контролируемой тепловой денатурации. Они располагаются между Q- (или G-) сегментами.
- г) C-сегменты (constitutive heterochromatin, конститутивный гетерохроматин) ограничивают прицентромерные районы в обоих плечах хромосом.



**Рис. 2.7.** Окрашивание серебром (стрелки) районов ядрышковых организаторов акроцентрических хромосом. (Courtesy of Dr. T. M. Schroeder-Kurth.)

д) Т-сегменты (telomeric, теломерные) расположены в теломерных районах хромосом.

Детальное описание этих методов можно найти в многочисленных публикациях. Многие лаборатории используют свои собственные модификации.

*Химические различия, выявляемые методами дифференциального окрашивания.* Природа химических различий, выявляемых этими методами, еще только исследуется. Обычно обсуждаются две основные гипотезы: так называемая ДНК-вая и белковая. Первая исходит из данных о том, что различные участки хромосом человека отличаются по количественному содержанию А—Т (аденин—тимин) и G—C (гуанин—цитозин) пар оснований. Акрихин-иприт связывается преимущественно с АТ-богатыми участками [466, 341]. Акридиновый оранжевый, соединяясь с одноцепочечной ДНК, дает красную флуоресценцию. После контролируемой денатурации R-сегменты окрашиваются в красный цвет. На основании этих данных можно предложить

следующую гипотезу:

а) Q-сегменты соответствуют участкам, богатым А—Т-парами.

б) R-сегменты соответствуют участкам, богатым G—C-парами, которые более устойчивы к тепловой денатурации, чем А—Т-богатые участки.

Эта гипотеза не объясняет, однако, все особенности рисунка сегментации. С другой стороны, белковая гипотеза исходит из данных о том, что протосолитическая обработка индуцирует появление G-сегментов. Но поскольку разные ДНК связаны в хромосомах с разными белками, можно полагать, что рисунок сегментации тем или иным образом зависит от особенностей целостного комплекса ДНК—белок.

*Окрашивание серебром районов ядрышкового организатора (ЯОР) [363, 511, 518].* Метод серебрения специфичен для ядрышкообразующих районов. Они видны как темные пятна на желто-коричневом фоне хромосом (рис. 2.7). При этом окрашиваются только те ЯОР, которые функционировали в предшествующей интерфазе.

*Хромосомы в сперматозоидах человека.* Несколько лет назад был предложен метод приготовления препаратов хромосом непосредственно из сперматозоидов человека. Для этого сперму сначала инкубировали с оопитами золотистого хомячка, лишенными блестящей оболочки, чтобы индуцировать митозы [489]. Этот метод весьма важен для прямого определения хромосомных аномалий в сперматозоидах человека. Однако его воспроизводимость очень плохая [431]. В одном исследовании частота хромосомных аномалий в сперматозоидах оказалась равной 8,5% [432].

### 2.1.2.3. Нормальный кариотип человека в метафазе митоза

*Стандартное окрашивание.* Хромосомы располагаются и нумеруются в зависимости от их длины. Согласно Денверской классификации, предложено нумеровать пары хромосом от 1 до 23 (1960). Патау (1960) [471] показал, однако, что в некоторых группах хромосомы нельзя однозначно классифицировать, и предложил идентифицировать пары на основании относительной длины и положения центromеры. В соответствии с этой последней характеристикой различают метацентрические, субметацентрические и акроцентрические хромосомы. Патау предложил разбить 23 пары на восемь групп от А до G. Это предложение было принято в качестве альтернативной процедуры. Все три пары метацентрических хромосом группы А можно идентифицировать. В группе Е обычно легко выделить хромосому 16, а хромосомы 17 и 18 поддаются идентификации, только если препараты высокого качества. Y-хромосому обычно можно отличить от других хромосом группы G. Все остальные хромосомы групп В, С (включая X-хромосому), D, F и G не идентифицируются. Важным параметром является центromерный индекс, который отражает отношение (в %) длины короткого плеча к длине всей хромосомы.

*Дифференциальное окрашивание.* Кариотип человека представлен на рис. 2.8–2.10, использованы различные методы. В настоящее время каждую хромосому можно идентифицировать. На рис. 2.11 изображены

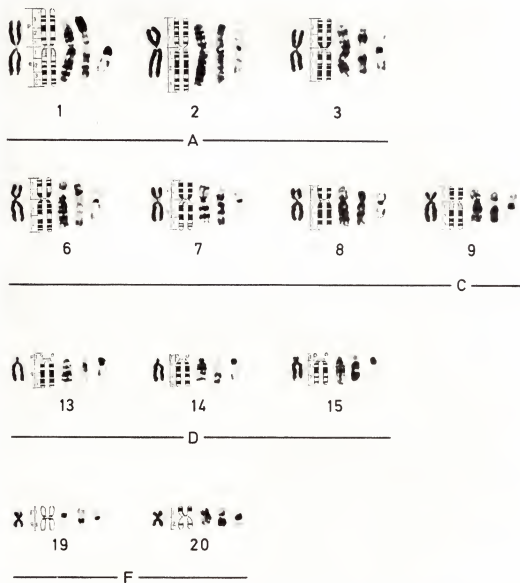
схема распределения G- и Q-сегментов и их нумерация. Отдельные хромосомы, а также их наиболее часто встречающиеся «нормальные» варианты описываются следующим образом [392].

*Индивидуальные характеристики хромосом человека.* Группа А (1–3). Большие, метацентрические и субметацентрические хромосомы. Хромосома 1 – самая большая метацентрическая хромосома. Центromера расположена посередине, центromерный индекс 48–49. В проксимальной части длинного плеча вблизи центromеры часто обнаруживается «вторичная перетяжка», что в ряде случаев приводит к удлинению длинного плеча (рис. 2.12). Растянутый сегмент по сравнению с остальной частью хромосомы может выглядеть очень тонким, а по сравнению со сверхспирализованными метафазными – «недоспирализованным» (uncoiler). Признак «недоспирализации», как и другие индивидуальные особенности хромосомной морфологии, обнаруживается во всех соматических и в половине половых клеток, т. е. наследуется как простой доминантный признак. Лocus uncoiler-1, определяющий этот признак, был использован для картирования локуса Даффи на хромосоме 1 (разд. 3.4). При окрашивании Q-методом вторичная перетяжка флуоресцирует слабо, при использовании G-метода она выглядит как плотный сегмент.

Самой большой субметацентрической хромосомой является хромосома 2 с центromерным индексом 38–40. Радиоавтографическое исследование с  $^3\text{H}$ -тимидином показало, что хромосома 2, особенно проксимальные районы обоих плеч, реплицируется относительно поздно.

Хромосома 3 с центromерным индексом 45–46 почти на 20% короче хромосомы 1 и, следовательно, легко идентифицируется. При окрашивании Q-методом в проксимальном районе ее длинного плеча часто выявляется ярко флуоресцирующий сегмент. Интенсивность флуоресценции значительно варьирует у разных индивидов, но постоянно во всех клетках для одного и того же хромосомного варианта.

Группа В (4 и 5). Большие субмета-

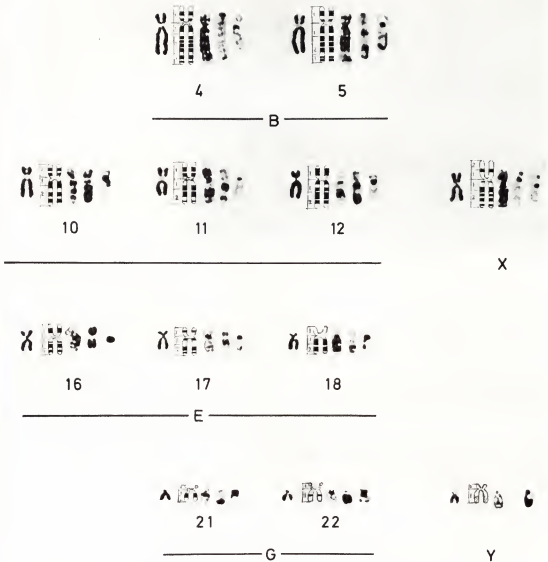


**Рис. 2.8.** Кариотип мужчины: хромосомы окрашены стандартным методом и методами, выявляющими характерную сегментацию. Слева направо: стандартное окрашивание; схематическое изобра-

центрические хромосомы (центромерный индекс 24–30) не различаются между собой без радиоавтографии или дифференциального окрашивания. Согласно данным радиоавтографических исследований, хромосома 4 является поздно реплицирую-

щейся по всей своей длине, в то время как в хромосоме 5 поздно реплицируется только короткое плечо. Рисунки распределения R- и G-сегментов у этих хромосом совершенно различны.

Группа C (6–12). Хромосомы среднего



жение рисунка сегментации; G-метод; R-метод; C-метод. (Courtesy of Dr. T.M.Schroeder-Kurth.)

размера, субметацентрические. При стандартном окрашивании X-хромосому нельзя отличить от других хромосом этой группы. Хромосомы 6, 7, 8, 11 и 12 являются относительно субметацентрическими, их центромерный индекс 27–35. В хромосоме 9

часто обнаруживают вторичную перетяжку в проксимальной части длинного плеча. Все эти хромосомы легко идентифицируются с помощью Q- и G-окрашивания. Вторичная перетяжка хромосомы 9 не окрашивается ни акрихином, ни красителем Гимза. Хро-

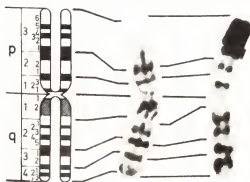


**Рис. 2.9.** Кариотип мужчины. Хромосомы окрашены Q-(справа) и R-(слева) методами. (Courtesy of T.M.Schroeder-Kurth.)

мозомы 11 и 12 обнаруживают очень сходный рисунок сегментации, что наводит на мысль об их общем происхождении и эволюции (они содержат локусы лактатдегидрогеназы А и В соответственно, общее происхождение которых предполагается на основании биохимических данных). Однако хромосома 11 заметно более метацентрическая, чем хромосома 12. В противоположность другим хромосомам этой группы X-хромосома значительно варьирует по длине. В целом она сходна с самыми длинными из С хромосом. Центро-

мерный индекс высокий, но довольно вариабельный. В клетках женщин одна из двух X-хромосом реплицируется в поздней S-фазе, когда репликация других С-хромосом (за исключением ряда коротких сегментов) уже завершена. Важно, что поздним является не только завершение, но также и начало репликации ДНК.

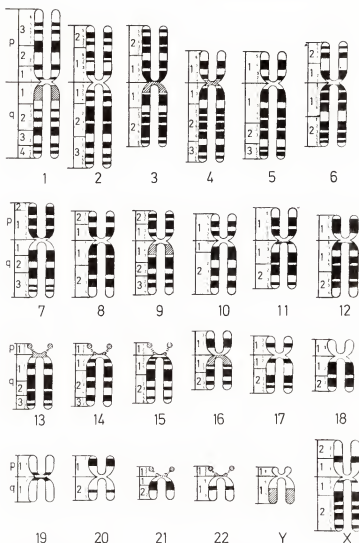
Группа D (13–15). Эти хромосомы акроцентрические по форме, сильно отличаются от всех других хромосом человека. Центромерный индекс около 15 – наименьший в кариотипе человека. Все три пары содержат спутник. Короткое плечо этих хромосом обнаруживает сильную межхромосомную вариабельность. Длина проксимальных участков коротких плеч варьирует, спутники могут отсутствовать, а могут быть очень большими, могут ярко флуоресцировать, а могут и не давать флуоресценции. В некоторых случаях наблюдаются двойные (тандемные) спутники. Длинные плечи трех хромосом четко различаются по Q- и G-сегментам. Для выявления вариантов в группе D—G сравнивают длины короткого плеча этих хромосом с длиной короткого плеча хромосомы 18 в той же клетке. Плечо считают длинным (ph +), если оно такой же длины, как короткое плечо хромосомы 18, и очень длинным, если оно длиннее короткого плеча этой хромосомы. Большие



**Рис. 2.10.** Хромосома 1: сравнение реальной G- и R-сегментации со схематическим изображением G- и R-сегментов. (Courtesy of T.M.Schroeder-Kurth.)



**Рис. 2.11.** Рисунок сегментации в соответствии с Парижской номенклатурой (G-, Q- и R-сегменты). Позитивные G- и Q-сегменты и негативные R-сегменты черные, вариабельные районы заштрихованы (Paris Conference, 1971, [468].)

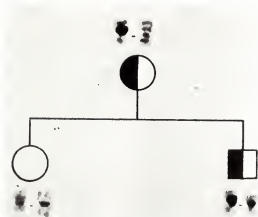


спутники обозначают (ps +), двойные спутники (pss), укороченное короткое плечо со спутниками или без них (ph —). Частота гетероморфизма гомологов в этой группе составляет 3,7% (8 из 216) в препаратах после дифференциального окрашивания и 2,3% (411 из 24 400) в стандартных препаратах [422] (рис. 2.14).

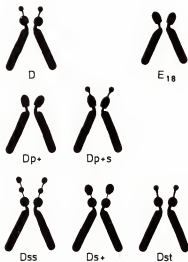
Группа E (16–18). Относительно короткие метацентрические или субметацентрические хромосомы. Хромосома 16 имеет центромерный индекс около 40. В среднем ее длина составляет чуть более одной трети



**Рис. 2.12.** Гетероморфизм конститутивного гетерохроматина во вторичной перетяжке хромосом 1, 9, и 16; С-метод [406].



**Рис. 2.13.** Наследование С-хромосомы, содержащей особенно большой блок конститутивного гетерохроматина (С-сегмент), от отца дочери. (Courtesy of Dr.T.M.Schroeder-Kurth.)



**Рис. 2.14.** Гетероморфизм акроцентрических маркерных хромосом групп D или G. *Первый ряд:* нормальные хромосомы группы D и хромосома 18 для сравнения. *Второй ряд:* Dp + : короткие плечи такой же длины, как короткие плечи хромосомы 18; p + s : спутники нормальных размеров на удлинённых коротких плечах. *Третий ряд:* D-хромосомы со структурными вариантами спутничного района. ss—двойные спутники; s+—увеличенные спутники; st—удлиненные спутничные нити [1711].

длины хромосомы 1, но обнаруживает значительную изменчивость. В длинном плече примерно в 10% случаев выявляется вторичная перетяжка. Длина проксимального G-сегмента варьирует в зависимости от выраженности этой перетяжки. Хромосома 18 примерно на 5–10% короче хромосомы 17 и имеет более короткое длинное плечо (у хромосомы 17 центромерный индекс составляет 31 по сравнению с 26 у хромосомы 18). Хромосома 17 реплицируется рано, хромосома 18 — поздно.

Группа F (19–20). Эти две хромосомы имеют центромерный индекс в пределах 36–46. В стандартных препаратах они выглядят одинаково, но при дифференциальном окрашивании резко различаются.

Группа G (21 и 22). У этих маленьких акроцентрических хромосом центромерный индекс варьирует в пределах 13–33. Они легко различаются по рисунку сегментации. Изменчивость их коротких плеч так же значительна, как и в хромосомах группы D. Здесь классифицируют такие же варианты, как и в группе D (рис. 2.14). Флуоресценция спутников и коротких плеч может быть слабой, умеренной и сильной, так же как и интенсивность окрашивания при использовании G-метода. В выборке из 2444 новорожденных 3,5% обнаруживают удлинённые короткие плечи. Другие варианты, такие, как гигантские спутники, удлинённые или укороченные короткие плечи, встречаются намного реже. По данным некоторых исследователей, общая частота вариантов хромосом группы G составляет 1,8% по препаратам с дифференциальным окрашиванием и 1,6% в стандартных препаратах. Короткие плечи хромосом группы D и G содержат ядрышковый организатор и специфично окрашиваются методом серебрения.

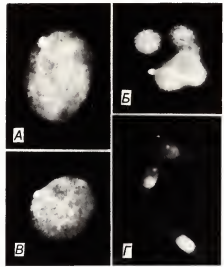
Y-хромосома обычно (но не всегда) больше, чем хромосомы группы G, и хроматиды ее длинного плеча, как правило, лежат параллельно одна другой. Этим она отличается от хромосом группы G, у которых хроматиды длинных плеч часто образуют широкий угол. Центромера видна менее четко, спутники отсутствуют, размер длинного плеча сильно варьирует, и некоторые варианты его длины наследуются.

Центромерный индекс варьирует от 0 до 26 (в среднем  $\sim 16$ ). При окрашивании акрихином обнаруживается довольно изменчивый ярко флуоресцирующий дистальный участок длинного плеча. Во многих случаях находят два сильно флуоресцирующих сегмента, реже – три. В популяционных исследованиях частота выраженных вариантов размеров длинного плеча Y-хромосомы составляет 5,6% (в выборке из 2444 новорожденных). В большинстве случаев Y-хромосома была удлинненной; у 5% новорожденных она оказалась длиннее F-хромосомы, у 0,33% – длиннее хромосомы 18; однако в 0,25% образцов была обнаружена очень маленькая Y-хромосома.

*Хроматин* [201, 516]. В интерфазных ядрах дистальный интенсивно флуоресцирующий участок длинного плеча Y-хромосомы является как яркое пятно диаметром 0,3–1,0 мкм. На рис. 2.15 показан Y-хроматин в эпителиальных клетках, гранулоцитах, больших лимфоцитах и в сперматозоидах.

*Измерения хромосом.* Измерения митотических хромосом сопряжены с определенными трудностями, так как положение центромеры не всегда можно определить достаточно точно. Парижская конференция (1971) [468] разработала рекомендации относительно измерений хромосом. В табл. 2.1 представлены усредненные данные о размерах митотических хромосом человека.

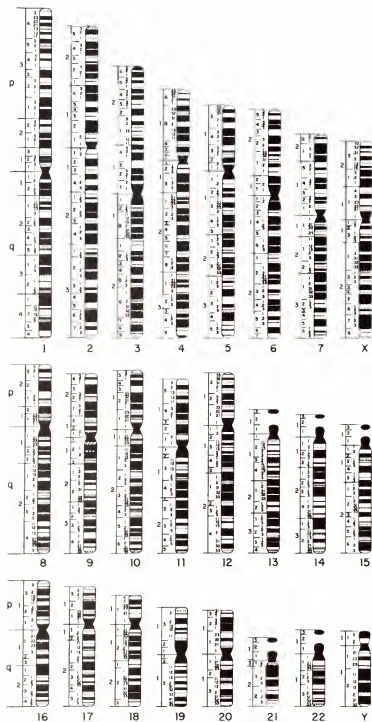
*Гетероморфизм хромосом.* Морфология отдельных хромосом не всегда одинакова у разных индивидов. Гетероморфизм особенно выражен в отношении размера спутничной области акроцентрических хромосом, длины Y-хромосомы, особенно ее гетерохроматического участка, и «вторичных перетяжек» хромосом 1 и 9. Характерен он и для гетерохроматических сегментов других хромосом (о гетерохроматине см. разд. 2.3.14). При анеуплоидии гетероморфизм гомологов по гетерохроматическим районам можно использовать для выяснения происхождения данной хромосомы от одного из родителей (разд. 5.1.2.3).



**Рис. 2.15.** Окрашивание акрихин-ипритом ядер из клеток мужчины с нормальным кариотипом. *А.* Слизистая оболочка рта, соскоб. Y-хроматин виден как двойная структура. *Б.* Гранулоцит периферической крови, мазок. Y-хроматин выделяется из ядра. *В.* Большой лимфоцит периферической крови, мазок. *Г.* Сперматозоиды. Y-хроматин обнаруживается на краю сильно флуоресцирующей области головки (X 2400). [201].

Во многих хромосомах обнаруживаются fragile (ломкие) участки, т. е. участки, подверженные хромосомным и хроматидным разрывам (разд. 2.2.2). Такие разрывы относительно просто индуцировать удалением фолевой кислоты из питательной среды [390a]. Недавно обнаружена ассоциация fragile участка в дистальном районе длинного плеча X-хромосомы с характерной формой умственной отсталости (разд. 8.2.1.2).

*Высокоразрезающее дифференциальное окрашивание.* Хромосомы в профазе и прометафаза конденсированы не столь сильно, как метафазные хромосомы. При обработке культуры лимфоцитов метотрексатом (для частичной синхронизации клеточного цикла) можно накопить достаточное число клеток, находящихся в профазе и прометафаза. Сокращение времени инку-



**Рис. 2.16.** Схема, иллюстрирующая сегментацию хромосом человека (1700 сегментов).

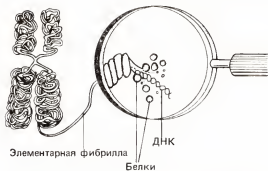
Широкие темные и белые полосы — это G-позитивные и G-негативные сегменты, видимые в прометафаза (стадия 850 сегментов), пунктирные линии соответствуют сегментам, различимым в средней профазе (стадия 1700 сегментов). (По Yunis, Hum. Genet., 56, p. 296, 1980.)

**Таблица 2.1.** Относительная длина (в процентах от длины гаплоидного набора аутосом) и центромерный индекс (отношение длины короткого плеча к общей длине хромосомы  $\times 100$ ). Хромосомы окрашены орсеином или методом Гимза 9 и предварительно идентифицированы с помощью Q-метода. (Парижская конференция, 1971 [468].)

№ хромосомы	Относительная длина	Центромерный индекс
1	$8,44 \pm 0,433$	$48,36 \pm 1,166$
2	$8,02 \pm 0,397$	$39,23 \pm 1,824$
3	$6,83 \pm 0,315$	$46,95 \pm 1,557$
4	$6,30 \pm 0,284$	$29,07 \pm 1,867$
5	$6,08 \pm 0,305$	$29,25 \pm 1,739$
6	$5,90 \pm 0,264$	$39,05 \pm 1,665$
7	$5,36 \pm 0,271$	$39,05 \pm 1,771$
X	$5,12 \pm 0,261$	$40,12 \pm 2,117$
8	$4,93 \pm 0,261$	$34,08 \pm 1,975$
9	$4,80 \pm 0,244$	$35,43 \pm 2,559$
10	$4,59 \pm 0,221$	$33,95 \pm 2,243$
11	$4,61 \pm 0,227$	$40,14 \pm 2,328$
12	$4,66 \pm 0,212$	$30,16 \pm 2,339$
13	$3,74 \pm 0,236$	$17,08 \pm 3,227$
14	$3,56 \pm 0,229$	$18,74 \pm 3,596$
15	$3,46 \pm 0,214$	$20,30 \pm 3,702$
16	$3,36 \pm 0,183$	$41,33 \pm 2,74$
17	$3,25 \pm 0,189$	$33,86 \pm 2,771$
18	$2,93 \pm 0,164$	$30,93 \pm 3,044$
19	$2,67 \pm 0,174$	$46,54 \pm 2,299$
20	$2,56 \pm 0,165$	$45,45 \pm 2,526$
21	$1,90 \pm 0,170$	$30,89 \pm 5,002$
22	$2,04 \pm 0,182$	$30,48 \pm 4,932$
Y	$2,15 \pm 0,137$	$27,17 \pm 3,182$

Данные получены Н.А. Lubs, T. Hostetter, L. Ewing при исследовании 95 клеток от 11 нормальных индивидов (6–10 клеток от каждого). Средняя общая длина хромосом на клетку: 176 мкм. Стандартное отклонение представляет собой среднее от стандартных отклонений для каждого из 11 индивидов (6–10 клеток от каждого).

бации с колцемидом позволяет избежать сильной конденсации. В препаратах таких хромосом отдельные сегменты, выявляемые стандартными методами, можно подразделить на субсегменты. Степень разделения зависит от стадии, на которой клетки были зафиксированы. Некоторые авторы описывают свыше 2000 сегментов [550]. Обычно в поздней профазе можно увидеть 800–1200 сегментов (рис. 2.16). Хотя этот метод не заменяет стандартный, исполь-



**Рис. 2.17.** Схематическое изображение хромосомы на стадии метафазы. (Buselmaier, Biologie für Mediziner, 1985.)

зуемый при рутинной диагностике, однако он полезен для более точной идентификации точек разрывов и мелких aberrаций, например в случае наследуемых сбалансированных и несбалансированных транслокаций или особенно в цитогенетике опухолей.

**Электронно-микроскопическая картина хромосом** [490, 517]. Чтобы выявить тонкую структуру хромосом человека, были использованы многочисленные методы электронной микроскопии. Современные модели организации генетического материала эукариот будут обсуждаться в разд. 2.3, здесь же достаточно сказать, что данные электронной микроскопии не противоречат модели, предполагающей, что хроматин состоит из сверхспирализованных нитей, причем имеется несколько порядков спирализации (рис. 2.17). Обнаружено три типа хроматиновых фибрилл: фибриллы первого типа имеют диаметр 250 Å, фибриллы второго типа – 100 Å и третьего – только 30–50 Å. Имеются довольно убедительные доказательства того, что фибриллы этого последнего типа представляют собой генетически активный хроматин. Двойная спираль чистой ДНК имеет диаметр ~ 20 Å, следовательно, фибриллы 30–50 Å соответствуют диаметру нити ДНК вместе с белками (гистонами и негистонами). Фибриллы диаметром 100 Å отражают, по-видимому, вторичную спирализацию фибрилл 30–50 Å, а нити 250 Å могут отражать третичный уровень спирализации. В метафазной хромосоме эти «третичные спирали» могут иметь примерно такую укладку, как указано на рис. 2.17. Примерно девять фибрилл 250 Å, вероятно, каким-то образом связаны вместе, и два таких пучка образуют различимую

на электронно-микроскопических изображениях спиральную структуру, характерную для каждой хромосомы [490]. В отдельных препаратах обнаруживаются остатки мембраны, предположительно ядерной. Некоторые исследователи считают этот факт доказательством того, что интерфазные хромосомы в разных точках прикреплены к мембране. Следует учесть, однако, что процесс приготовления препаратов для электронной микроскопии хромосом включает целый ряд процедур, и потому трудно решить, существуют ли эти или другие структуры *in vivo* или они являются попросту артефактами.

### 2.1.2.4. Мейоз

*Биологическая функция мейоза.* Благодаря митозу поддерживается постоянство числа хромосом в ряду клеточных поколений. В отличие от митоза мейотический процесс обеспечивает уменьшение (редукцию) диплоидного числа хромосом (46 у человека) наполовину до гаплоидного (23 у человека). При оплодотворении в результате слияния двух гаплоидных половых клеток в зиготе восстанавливается диплоидное число 46, которое сохраняется во всех последующих митотических делениях. В мейозе расхождение гомологичных хромосом в разные половые клетки происходит случайно, что увеличивает генетическую изменчивость. Соматические клетки являются диплоидными (2n), они содержат обе гомологичные хромосомы одной пары, в то время как половые клетки гаплоидны (n) и несут только один гомолог из каждой пары. Последний цикл регулярного синтеза ДНК происходит в интерфазе непосредственно перед первым мейотическим делением и предшествует фазам мейоза, показанным на рис. 2.18.

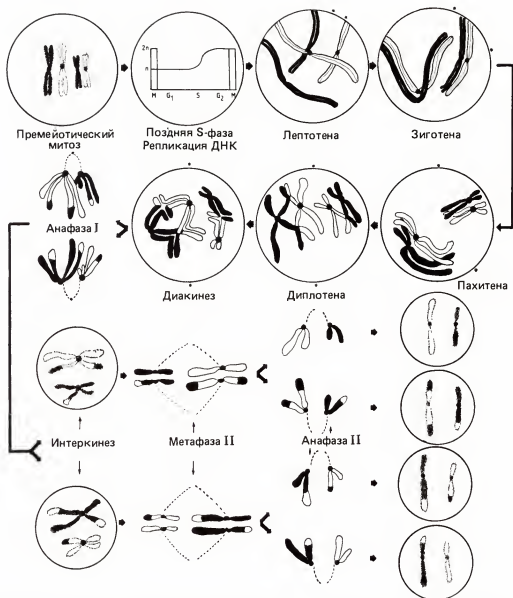
*Первое деление мейоза.* Профаза I. На этой стадии становятся видимыми длинные хромосомные нити (лептотена), затем происходит конъюгация (спаривание) гомологичных хромосом, которая часто начинается с теломерных районов (зиготена). Точный молекулярный механизм конъюгации хромосом еще не известен. Две конъюгированные гомологичные хромосомы (называемые на этой стадии «бivalentом») формируют на субмикроскопическом уровне

характерную двойную структуру, так называемый синаптомемальный комплекс (рис. 2.19). К моменту завершения конъюгации хромосомы вследствие спирализации становятся короче и толще (пахитена). В каждом биваленте обнаруживается продольная щель и становятся видимыми расположенные бок о бок четыре хроматиды (диплотена). В то время как сестринские хроматиды остаются спаренными, несестринские — разделяются. На этой стадии несестринские хроматиды соединяются между собой в некоторых точках, образуя фигуру, напоминающую греческую букву  $\chi$ . Такие фигуры получили название «хиазм».

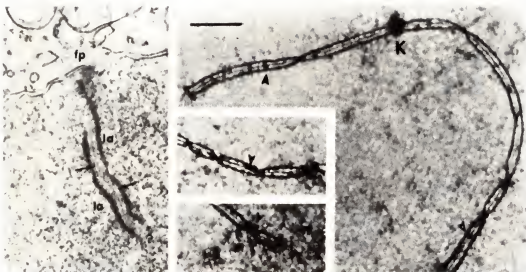
Метафаза I. Хромосомы располагаются в экваториальной плоскости, а их центромерные районы оттянуты к полюсам. Гомологичные хромосомы начинают разделяться, но еще удерживаются в участках хиазмообразования, особенно часто — в дистальных районах.

Анафаза I. Начинается «терминализация» хиазм, т.е. они перемещаются к концам хромосом и затем исчезают. Гомологичные хромосомы окончательно разделяются и перемещаются к противоположным полюсам. Образуются дочерние ядра (интеркинез).

*Второе деление мейоза.* В принципе, это митотическое деление удвоенного гаплоидного набора хромосом. Как указывалось выше, мейоз начинается после завершения последнего цикла репликации ДНК, в результате чего количество генетического материала в ходе первого деления остается удвоенным ( $2 \times 2$  гомологичных хромосом), но после завершения второго деления оно распределяется по четырем половым клеткам. Второй важный аспект мейоза состоит в случайном распределении гомологичных хромосом, благодаря чему существует большое число возможных комбинаций хромосом в разных половых клетках. При наличии у человека 23 пар хромосом число возможных комбинаций в одной гамете составляет  $2^{23} = 8\,388\,608$ . Число возможных комбинаций хромосом в потомстве данной пары родителей состав-



**Рис. 2.18.** Стадии мейоза. Отцовские хромосомы окрашены в черный цвет, материнские – в белый. На рисунке изображен мейоз у мужчины. В мейозе у женщины образуется полярное тельце.



**Рис. 2.19.** Слева: электронная микрофотография синаптонемального комплекса с точкой фиксации (*fp*) в середине пахитены (сперматоцит мыши). Видны два электроноплотных латеральных плеча (*la*) и темный участок средней плотности, соответствующий месту спаривания.  $\text{OsO}_4$ , Vestopal,  $\times 36000$ . (Schleiermacher, Schmidt, 1973.) Справа. Синаптонемальный комплекс спермато-

цита человека. К — центромера; стрелки указывают на плотные участки. Верхняя и нижняя врезки: полосы, параллельные оси синаптонемального комплекса. Увеличение  $\times 15800$ ; полосы могут соответствовать местам рекомбинации. (По Solari, Chromosoma, 81, p. 330, 1980.)

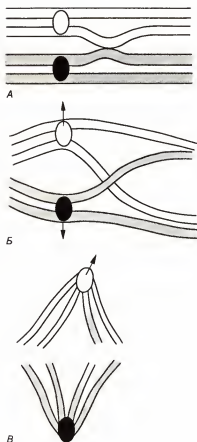
ляет  $2^{23} \times 2^{23}$ , а в действительности еще больше — за счет кроссинговера (перекреста), происходящего во время конъюгации гомологичных хромосом. Морфологическим проявлением кроссинговера являются хиазмы. Каждая хиазма соответствует одному событию кроссинговера, в котором участвуют две несестринские хроматиды (рис. 2.20). Одно время активно дебатировался вопрос о том, происходит ли кроссинговер во время последнего цикла репликации ДНК посредством механизма «выбора копии» или уже после синтеза ДНК путем разрыва и последующего крестообразного воссоединения несестринских хроматид в гомологичных сайтах (рис. 2.21). Эта альтернатива теперь, по-видимому, разрешена в пользу гипотезы «обменов». Например, в профазе I наблюдается так называемый внеплановый синтез ДНК, который вполне может отражать

процесс воссоединения концов при кроссинговере. Молекулярные механизмы рекомбинации не являются специфической проблемой генетики человека. Они обстоятельно обсуждаются в руководствах по молекулярной генетике.

**Сперматогенез.** С наступлением половой зрелости сперматоциты мужчины постоянно претерпевают мейотические деления. После второго мейотического деления происходит плотная упаковка ДНК и митохондрий и завершается формирование спермиев, которые приобретают способность активно двигаться. Препараты хромосом на стадии сперматогонияльных митозов или на стадии мейотического деления можно получить из материала биопсии тестикул, удаленных при хирургической операции.

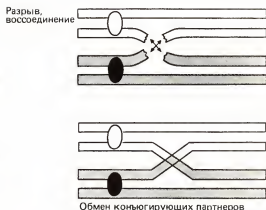
Хромосомы на стадии диакинеза в



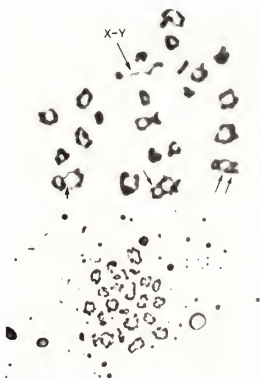


**Рис. 2.20.** Кроссинговер и образование хиазм. *А.* Гомологичные хроматиды соединены между собой. *Б.* Происходит кроссинговер с образованием хиазм. *В.* Разделение хиазм.

мейозе у мужчины показаны на рис. 2.22. Гомологи еще тесно прилегают один к другому в их теломерных районах, в то время как центромерные районы уже начали перемещаться к полюсам. Половой бивалент четко отличается от всех остальных благодаря тому, что X- и Y-хромосомы ассоциируют «конец в конец» и хиазмы в нем не обнаруживаются. Во время пахитены половой бивалент начинает конденсироваться раньше других и находится в «половом пузырьке». Часть района короткого плеча X-хромосомы и короткое плечо Y-хромосомы конъюгируют (рис. 2.23). Гиб-



**Рис. 2.21.** Разрыв и воссоединение неестринских хроматид при кроссинговере.



**Рис. 2.22.** Мейоз у мужчины. Стадия диакинеза. Ясно виден бивалент XY [405]. *Стрелки* указывают на хиазмы.



**Рис. 2.23.** Спаривание коротких плеч хромосом X и Y в раннем мейозе человека. (Courtesy of Dr. Goetz.)

ридизационные эксперименты с ДНК-зондами показали, что эти районы структурно гомологичны [502]. В случае свободной рекомбинации генов, локализованных в гомологичных сегментах X- и Y-хромосом, их поведение не должно было бы отличаться от поведения аутосомных генов. Такие «псевдоаутосомные» X- и Y-сцепленные гены действительно были идентифицированы [315а; 488а]. Холдейн (1936) [372], учитывая возможность редкого кроссинговера между X- и Y-хромосомами, предположил существование частичного сцепления с полом тех генов человека, которые локализованы в гомологичном для X- и Y-хромосом сегменте. Однако удовлетворительные доказательства такого частичного сцепления с полом у человека пока не получены. Более того, локусы стероид-сульфатазы и эритроцитарного анти-

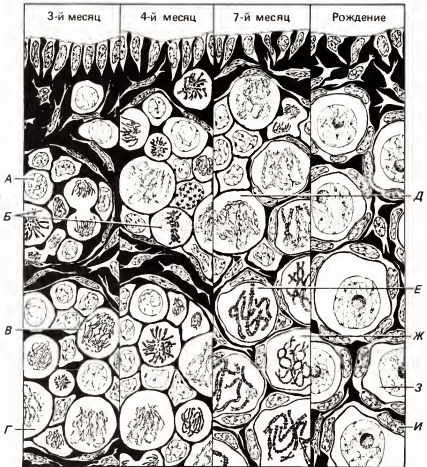
гена Hg, расположенные очень близко к псевдоаутосомному району X-хромосомы, сегрегируют в соответствии с классическим X-сцепленным наследованием.

Среднее число хиазм на клетку и размах изменчивости по этому показателю приведены в табл. 2.2. Некоторые биваленты могут содержать несколько хиазм, свыше пяти и даже шесть. Исходя из числа хиазм, генетическая длина (разд. 3.4) генома человека составляет около 25,5 морганиды у мужчин; у женщин эта величина больше, но точные оценки еще не получены [450]. Домовая мышь—единственное млекопитающее, кроме человека, для которого получены достоверные оценки,—имеет геном длиной 16,2–19,2 морганиды [88].

**Оогенез.** У всех млекопитающих оогенез сильно отличается от сперматогенеза. Общая схема представлена на рис. 5.13 (разд. 5.1.3.3). На рис. 2.24 и 2.25 приведена схема цитологических процессов. Ооциты полностью формируются уже на поздней эмбриональной стадии. После диплотены клетка переходит в стадию дикиотены, для которой характерна морфология хромосом типа «ламповых щеток». В этой стадии мейоз останавливается на долгие годы. После рождения большинство ооцитов дегенерирует. В процессе полового созревания некоторые ооциты начинают расти, заканчивают первое мейотическое деление и вступают в профазу II и затем в метафазу II. В это же время начинается овуляция. Мейоз завершается только после оплодотворения. Вокруг женских и мужских гаплоидных наборов хромосом образуется ядерная мембрана, и зигота теперь содержит два «пронуклеуса». Эта стадия особо чувствительна к нарушениям, выз-

**Таблица 2.2.** Число хиазм в мейозе у мужчины (1-е деление) [88]

Количество индивидов	Возраст	Количество клеточек	Хиазмы/клетка		Хиазмы/бивалент, среднее
			число	среднее	
48	15–79	817	39–64	54,4	2,36



**Рис. 2.24.** Митоз и мейоз у плода женского пола человека. До 3-го месяца отмечаются только митотические деления (*А* – интерфаза; *Б* – метафаза; *В* – анафаза). Затем становятся видимыми первые мейотические деления (*Г* – лептотена; *Д* – зиготена). Начиная с 7-го месяца в мейоз входят новые ооциты. Первые пахитены (*Е*) и диплотены (*Ж*) наблюдаются у семимесячного

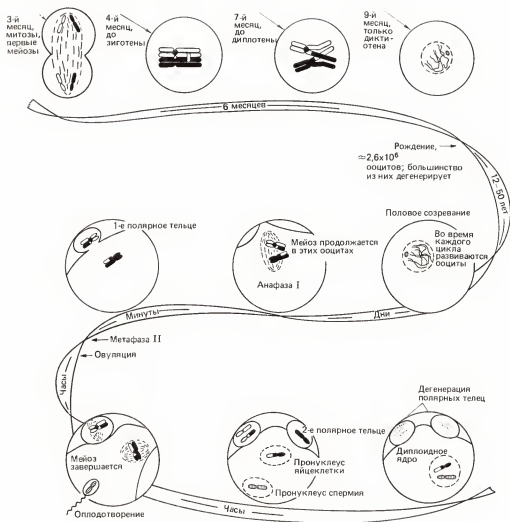
плода. Затем мейоз задерживается, формируется ядерная мембрана, образуется ядрышко и клетки входят в «фазу покоя», диктиотену (*З*). Клетки, окружающие ооцит (*И*), выполняют функции питающих; позднее они дадут начало фолликулу, в котором заключен ооцит. (По Ohno et al., 1962; см. также Bresch, Hausmann, Klassische und Molekulare Genetik, 1972.)

ванным, например, мутагенными агентами (разд. 5.2.1). Несколько часов спустя два пронуклеуса сливаются, образуя диплоидное ядро, и зигота начинает делиться путем обычных митозов.

Исследование мейотических хромосом в оогенезе сопряжено с большими трудностями. Было опубликовано лишь несколько удовлетворительных микрофотографий

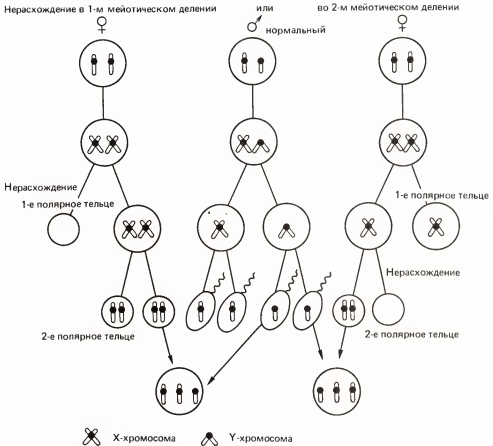
(рис. 2.26). Анализ генетического сцепления показывает, что кроссинговер у женщин происходит чаще, чем у мужчин (разд. 3.4), следовательно, и хиазм у женщин должно быть больше.

У женщин только одна из четырех клеток – продуктов мейоза развивается в ооцит, три другие формируют полярные тельца, которые в норме не оплодотворяются.



**Рис. 2.25.** Мейоз у женщины. Мейоз начинается после трех месяцев пренатального развития. В детстве цитоплазма ооцита увеличивается в объеме, но ядро остается неизменным. Около 90% всех ооцитов дегенерирует к началу полового созревания. В первой половине каждого месяца лютеинизирующий гормон (ЛН) стимулирует мейоз, и он почти завершается (завершаются профазы, которая началась в эмбриональном периоде; метафаза I, анафаза I, телофаза I и в течение нескольких минут – профазы II и мета-

фаза II). Затем мейоз снова останавливается. Овуляция индуцируется лютеинизирующим гормоном (ЛН). Оплодотворение происходит в фаллопиевой трубе. После этого завершается второе мейотическое деление. Образуется ядерная мембрана, окружающая материнские и отцовские хромосомы. Спустя несколько часов два «пронуклеуса» сливаются и начинается первое деление дробления. (Bresch, Hausmann, Klassische und Molekulare Genetik, 1972.)



**Рис. 2.26.** Нерасхождение X-хромосомы в первом (слева) и во втором (справа) делении мейоза у женщины. Оплодотворение нормальным сперматозоидом. Индивид с набором XXУ может появиться в результате нерасхождения как в первом, так и во втором мейотическом делении.

Обычно считают, что вероятность для хромосомы оказаться в полярном тельце не зависит от ее генетических особенностей. Данные о сохранении стандартных сегрегационных вероятностей для большинства генных мутаций (50:50, 25:75 и т.д.) свидетельствуют, что это допущение справедливо. Однако имеются и исключения (разд. 3.1.4): в случае структурных aberrаций хромосом возможно неслучайное расхождение нормальных и aberrантных гомологов в полярные тельца.

*Половые различия в мейозе.* Две основные особенности отличают мейоз у мужчин и женщин:

1. У мужчин все четыре клетки, образующиеся в результате мейотического деления, развиваются в зрелые гаметы, в то время как у женщины только одна из них становится зрелым ооцитом, остальные дегенерируют.
2. У мужчин мейоз следует непосредственно за серией митотических делений; он завершается, когда сперматиды па-

чинают трансформироваться в зрелые спермии. У женщин мейоз начинается на очень ранних стадиях эмбрионального развития, и ему предшествует намного меньше оогониальных митотических делений. После этого мейотический процесс прерывается на длительный период и завершается только после оплодотворения.

Эти различия важны для генетики человека. То обстоятельство, что только одна из четырех клеток развивается в зрелый ооцит, а три полярных тельца почти (или совсем) не имеют цитоплазмы, дает возможность этому ооциту передать новой зиготе полный набор цитоплазматических компонентов, таких, как митохондрии и информационные РНК (разд. 4.7.1). Эти различия в клеточной кинетике, вероятно, обуславливают разницу между мужчинами и женщинами в частоте трисомий, с одной стороны, и точковых мутаций — с другой (разд. 5.1 и 5.2).

## 2.2. Хромосомные заболевания человека

### 2.2.1. Синдромы, связанные с аномалиями числа хромосом

*Механизмы, лежащие в основе геномных мутаций (аномалии числа хромосом). Аномалии числа хромосомом могут быть вызваны разными причинами:*

1. Наиболее важным механизмом является нерасхождение. Хромосомы, которые в норме должны разделиться во время клеточного деления, остаются соединенными вместе и в анафазе отходят к одному полюсу. Это может произойти в ходе митотического деления, но чаще наблюдается во время мейоза. У человека по неизвестным причинам именно акроцентрические хромосомы имеют тенденцию чаще вовлекаться в нерасхождение (разд. 5.1.2). Мейотическое нерасхождение было открыто Бриджсом (1916) [311] у дрозофилы. На каждую гамету с одной добавочной хромосомой приходится другая, без одной хромосомы. После оплодотворения гаметой с нормальным набором хромосом зигота оказывается по одной из хро-

мосом либо трисомной, либо моносомной. Соматическое нерасхождение в митотически делящихся клетках во время раннего развития может приводить к мозаицизму с наличием нормальных клеток, трисомиков и моносомиков.

2. Вторым механизмом, обуславливающим геномные мутации, является утрата отдельной хромосомы вследствие «анафазного отставания»: во время анафазного движения одна хромосома может отстать от всех других. Утрата хромосом ведет к мозаицизму, при котором имеются одна зуплоидная и одна моносомная клеточная популяция. У мыши стадия пронуклеусов (т.е. период между проникновением ядра спермия в ооцит и слиянием двух гаплоидных родительских ядер) особенно чувствительна к утрате отцовской Х-хромосомы. Этот период, как и первые стадии дробления, вероятно, весьма чувствителен и у человека, поскольку многие мозаики формируются именно на этой стадии (разд. 5.1.6).

3. Третьим механизмом является полиплоидизация. При этом в каждой клетке геном целиком представлен более чем дважды. У человека обнаружена только триплоидия, при которой число хромосом равно  $3n = 69$ .

Аномальное число хромосом в клетке (анеуплоидия) увеличивает риск последующих нарушений, таких, как потеря хромосом вследствие анафазного отставания в последующих клеточных делениях. Для многих случаев мозаицизма с двумя клеточными популяциями, состоящими из равных пропорций трисомных и зуплоидных клеток, такое объяснение представляется наиболее удовлетворительным (разд. 5.1.6). Хромосома, лишенная партнера, в таких случаях, по-видимому, мешает нормальной конъюгации двух других гомологов.

*Синдром Дауна.* Это наиболее частое хромосомное заболевание человека. Его частота среди новорожденных 1–2/1000, и именно этот синдром является наиболее распространенной причиной обращения в медико-генетические консультации. Рис. 2.27 показывает, что физические



**Рис. 2.27.** Дети с синдромом Дауна. А. Европеоид. Б. Негр. В. Представитель азиатской расы. Общие признаки синдрома Дауна более заметны, чем расовые различия. (Courtesy of Dr.T.M. Schroeder-Kurth.)

Задержка роста  
 Умственная отсталость  
 Плоский затылок  
 Диспластичные уши  
 Много "петель" на кончиках пальцев  
 Обезьянья складка  
 Срединный осевой триадиус  
 Одностороннее или двустороннее отсутствие одного ребра  
 Стеноз кишечника  
 Пупочная грыжа  
 Диспластичный таз  
 Гипотоничные мышцы  
 Широко отставленные большие пальцы



Широкое плоское лицо  
 Раскосые глаза  
 Эпикант  
 Короткий нос  
 Маленькое и арковидное нёбо  
 Большой складчатый язык  
 Зубные аномалии  
 Короткие и широкие кисти  
 Клинодактилия  
 Врожденный порок сердца  
 Мегаколон

**Рис. 2.28.** Основные клинические симптомы болезни Дауна.

различия между тремя основными расовыми группами существенно перекрываются фенотипическим сходством всех больных. На рис. 2.28 приведены наиболее частые клинические симптомы. Наиболее важными характеристиками синдрома являются следующие:

а) это четко очерченное состояние. Несмотря на значительную изменчивость отдельных признаков, у опытного клинициста диагноз редко вызывает сомнение;

б) частота синдрома увеличивается с возрастом матери;

в) в большинстве случаев в семье регистрируется только один больной; в очень небольшом числе семей наблюдаются повторные случаи;

г) монозиготные (МЗ) близнецы обычно конкордантны, в то время как большинство дизиготных близнецов дискордантны. Из этого правила, однако, есть исключения - иногда встречаются дискордантные пары МЗ [545]. Это связано, вероятно, с утерей лишней хромосомы той клеткой, из которой сформировался нормальный партнер;

д) мужчины с синдромом Дауна бесплодны, однако описано по крайней мере 17 женщин с этим синдромом, у которых были дети. Среди 19 таких детей (включая одну пару МЗ близнецов) у 7 имеется синдром Дауна, 9 - нормальные, 2 умственно отсталые без синдрома Дауна и 2 мертворожденных МЗ близнеца - с нормальными кариотипами, которые учитывались как один индивид [443]. Все матери и пораженные дети, у которых было проведено исследование хромосом, имели кариотип 47,G + , один из умственно отсталых детей без синдрома Дауна имел нормальный кариотип 46, XY;

е) продолжительность жизни больных сокращена [160]. Согласно австралийским данным, опубликованным еще в 1963 г. [327], 31,1% больных умирают в конце первого года жизни, 46% - в конце третьего года. Продолжительность жизни укорочена и в поздних периодах жизни. В другой выборке [465] 37 из 73 больных умерли от респираторных заболеваний (туберкулез не учитывался), что в 123 раза выше частоты смертельных случаев по тем же причинам в общей популяции того же возраста. 5 больных умерли от других инфекций. Эти данные дают основания предполагать наличие при болезни Дауна дефекта иммунной системы. Увеличена также частота врожденных пороков сердца. С появлением антибиотиков и развитием сердечной хирургии эти больные живут намного дольше (рис. 2.29). Однако вряд ли крайне значения продолжительности жизни будут слишком большими, поскольку предполагается, что больные с синдромом Дауна стареют быстрее, чем нормальные люди;



**Рис. 2.29.** Женщина с синдромом Дауна в возрасте 38 лет. (Courtesy of Dr.T.M. Schroeder-Kurth.)

ж) степень выраженности отдельных фенотипических характеристик синдрома изменчива. Например, врожденный порок сердца отмечается у некоторых, но не у всех больных, и это верно для многих других клинических признаков, описанных выше и перечисленных на рис. 2.28. Такая высокая изменчивость фенотипических проявлений характерна для всех хромосомных синдромов человека;

з) в 20 раз повышен риск смерти от острого лейкоза. Причины этого неизвестны. Существует три гипотезы: высокий риск анеуплоидии, связанный с митотическими нарушениями в стволовых клетках крови, сниженная резистентность к инфекции лейкозогенными вирусами и, как показывают экспериментальные данные, низкая эффективность системы репарации (разд. 5.1.16).

*Стандартный кариотип при синдроме Дауна.* Хромосомы группы G больного с синдромом Дауна представлены на рис. 2.30 (окраска G- и Q-методом). По рисунку сегментации хромосомы 21 и 22 легко различимы, хромосома 21 имеет более сильно флуоресцирующий широкий сегмент и один или два темных G-сегмента. Хромосома 22 имеет темный G-сегмент в

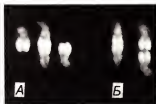




**Рис. 2.30.** D- и G-хромосомы больного с синдромом Дауна. Окрашивание Q- и G-методом. Обратите внимание на широкий сегмент в проксимальном районе 21p, по которому хромосома 21 отличается от хромосомы 22. (Courtesy of Dr.T.M. Schroeder-Kurth.)

проксимальной части длинного плеча и слабоокрашенный – более дистально. В течение короткого периода после открытия трисомии 21 были описаны отдельные случаи болезни Дауна якобы без добавочной хромосомы 21. Однако теперь общепризнано, что каждый больной с этим синдромом имеет дополнительную хромосому либо в форме регулярной трисомии 21, либо в форме транслокации, образованной хромосомой 21 и другой хромосомой (чаще всего 21, 22, 13, 14, 15). Наблюдения редких случаев реципрокной транслокации позволяют сделать вывод, что именно дистальный район длинного плеча хромосомы 21, в частности сегмент 21q22, ответствен в случае его трисомии за возникновение характерного фенотипа [371]. Например, у девочки, кариотип которой помимо одной нормальной хромосомы 21-й пары содержит дуплицированный второй гомолог 21, но без сегмента 21q22 (рис. 2.31), отмечалась умеренная умственная отсталость, но у нее отсутствовала большая часть признаков синдрома Дауна. В то же время трисомия только по одному сегменту 21q22 приводит к мягким проявлениям этого синдрома [370].

Синдром Дауна был известен как клинически самостоятельное заболевание задолго до трисомии 21. Другие синдромы, связанные с аномалиями аутосом, были скрыты среди огромного количества множественных пороков развития, и возможность их выделения как самостоятельных клинических единиц появилась только в результате развития методов хромосомной диагностики. Однако теперь, оценивая ситуацию ретроспективно, можно отметить, что некоторые синдромы настолько своеобразны,



**Рис. 2.31.** А. Тандемная дупликация в одной из хромосом 21-й пары, не захватывающая сегмент 21 q 22 (средняя хромосома), у ребенка с неглубокой умственной отсталостью и с отсутствием многих признаков синдрома Дауна [371]. Б. Аномальная хромосома (слева) и для сравнения две нормальные хромосомы 21, совмещенные на фотографии теломерами (справа). Здесь в отличие от хромосомы с дупликацией полоса 21 q 22 выглядит удвоенной.

разны, что их, вероятно, можно было бы выделить на чисто клинической основе.

**Другие аутосомные трисомии.** Патау и сотр. (1960) [472] впервые описали случай аутосомной трисомии, отличный от трисомии 21. Это открытие было результатом целенаправленного поиска на основе гипотезы, которая была сформулирована авторами следующим образом:

«С генетической точки зрения маловероятно, что добавление к нормальному набору какой-то аутосомы будет иметь такой же ограничительный эффект, как X-трисомии. В настоящее время известен только один тип аутосомной трисомии, и, хотя лишняя хромосома является одной из двух самых маленьких аутосом, ее наличие в триплицированном состоянии приводит к миеголизму... Следует ожидать, что другие аутосомные трисомии, если они совместимы с жизнью, должны также приводить к множественным врожденным порокам».

Благодаря систематическому обследованию новорожденных с множественными пороками развития Патау с сотр. удалось выявить три случая трисомии: двух больных с трисомией по 18-й хромосоме и одного – с трисомией по одной из D-хромосом. Одновременно Эдвардс и сотр. [343] также обнаружили новорожденного с трисомией 18 (первоначально ошибочно идентифицированную как трисомия 17). Трисомия D позже была идентифицирована как трисомия 13. Основные признаки и симптомы заболеваний, связанных с этими хромосомными аномалиями, представлены на рис. 2.32 и 2.33. В последующие годы все попытки открыть новые синдромы аутосомных трисомий среди новорожденных оказались безуспешными, на основании чего был сделан вывод о том, что они летальны. Этот вывод был подтвержден исследованиями хромосом при спонтанных абортax; в клетках таких эмбрионов обна-

руживались и другие варианты трисомии. Открытие трех новых синдромов – трисомии 8, 9 и 22 – последовало после разработки методов дифференциального окрашивания [292, 396, 402]. Как и следовало ожидать, и эти, по-видимому, весьма редкие [503, 195] хромосомные аномалии вызывают тяжелые и комплексные пороки развития.

**Триплоидия.** Первые примеры триплоидии обнаружены у двух абортированных плодов [335, 475]. Приблизительно в это же время описан сомнительный случай мозаицизма [308]. Более поздние исследования показали, что триплоидия у спонтанных абортусов не так уже редка, а в очень небольшом числе случаев наблюдается даже у живорожденных детей [458]. К 1974 г. на основании изучения 275 триплоидных абортусов, полученных при сроках беременности менее чем 20 недель, была

Колобома микрофтальм

Умственная отсталость

Задержка роста

Низко расположенные и деформированные уши

Глухота

Обезьянья складка

Дистальный осевой триадаиус

Дефект перегородки предсердия

Дефект межжелудочковой перегородки

Декстрокардия

S-образные фибулярные радиальные дуги

Увеличенная сегментация полиморфноядерных гранулоцитов.

Высокая частота "барабанных палочек" и C-придатков



Микроцефалия

Арриненцефалия

Гипертелоризм

Незаращение верхней губы и нёба

Полидактилия, флексия

Деформация пальцев

Деформация ногтей

Почечные кисты

Двойной мочеточник

Гидронефроз

Гидроуретер

Пупочная грыжа

Аномалии развития матки

Крипторхизм



Рис. 2.32. Основные клинические симптомы трисомии по хромосоме 13.

накоплена более или менее детальная информация. Двадцать два из исследованных плодов достигли возраста 28 недель; пять других погибли *in utero*; остальные прожили несколько часов или дней после рождения. Все живорожденные дети, прожившие дольше нескольких дней (к 1974 г. их было 8), оказались триплоид-диплоидными мозаиками.

Наиболее характерным признаком триплоидии является пузырное перерождение плаценты (*mole hydatidiforme*). У некоторых эмбрионов обнаруживаются локальные пороки развития, но часть плодов имеет как будто бы нормальный фенотип.

Триплоиды, родившиеся живыми, имеют небольшой вес, широкий задний родничок с недоразвитыми затылочными и теменными костями черепа и другие неспецифические аномалии, которые характерны для многих аутосомных аберраций.

Триплоиды мужского пола с кариотипом 69, XXУ характеризуются нарушением гениталий: у них маленький половой член в сочетании с гипоспадией, расщепленной мошонкой и неопустившимися яичками. Некоторые из мозаиков выживают. Клинические признаки не очень четкие, предварительный диагноз можно поставить на основании умственной отсталости в сочетании с аномалиями плаценты, синдактилией, аномалиями гениталий и асимметрией.

Триплоидия возникает вследствие ошибок при образовании половых клеток (рис. 2.34). Различия в причинах появления триплоидов определяют среди них соотношения индивидов с генотипами XXX, XXУ и XYУ. Существуют факты, свидетельствующие о том, что причиной триплоидии может быть двойное оплодотворение или отсутствие первого мейотического деления ооцита [1504, 414].

Задержка роста  
Умственная отсталость  
Долихоцефалия  
с выступающим затылком  
Ретрофлексия головы  
Дуги на трех или более  
концах пальцев  
Отсутствие кожных складок  
выше дистальных суставов  
Обезьянья складка  
Короткая грудина  
Подковообразная почка  
Аддукционная деформация  
бедра  
Мышечный гипертонус  
*Peс equinovarus*  
Выступающие пятки  
Дорзальная флексия  
больших пальцев

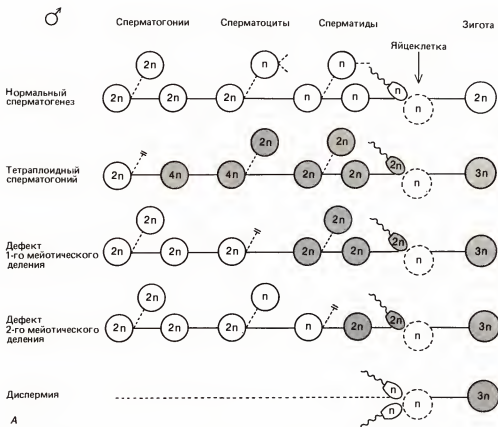


Открытые швы черепа и широкие  
роднички при рождении  
Гипертелоризм  
Высокие надбровные дуги  
Низко расположенные  
и деформированные уши  
Микрогнатия  
Флексорная деформация пальцев  
Персистирующий артериальный  
проток  
Дефект межжелудочковой  
перегородки  
Меккелев дивертикул  
Отсутствие больших губ  
Выступающие наружные гениталии  
Маленькая плацента

**Рис. 2.33.** Основные клинические симптомы трисомии по хромосоме 18.

**Мозаики.** Мозаиками называют особей, в организме которых сосуществуют две или более генетически различных клеточных популяции. Мозаицизм обнаруживается довольно часто при численных аномалиях как половых хромосом, так и аутосом. Хромосомных мозаиков иногда называют миксоплоидами. Мозаик может возникнуть вследствие митотического нерасхождения или в результате утери хромосомы вследствие анафазного отставания (рис. 2.35). Оценки частоты таких нарушений митоза получены в случае синдрома Дауна. Риск

анафазного отставания в 400 раз выше в трисомной зиготе, чем в диплоидной, а митотического нерасхождения – в 70 раз. Эти оценки основаны на сопоставлении относительных частот различных типов мозаицизма (разд. 5.1.6) и на анализе эффекта возраста матери. Частота мозаиков, возникающих вследствие мейотического нерасхождения с последующей утратой дополнительной хромосомы в анафазе теоретически должна увеличиваться с возрастом матери, так же, как и при обычных гаметических трисомиях. В то же время



**Рис. 2.34.** Аномалии оогенеза, сперматогенеза или оплодотворения, обуславливающие триплоидию. А. Мужчина может оказаться триплоидным, если у его отца имелся тетраплоидный сперматогоний или был нарушен мейоз. Триплоидия у мужчин может быть и результатом оплодотворения двумя сперматозоидами (По

Niebuhr, Hum Genet., 21, 1974). Б. У женщин, так же как у мужчин, триплоидия может объясняться нарушением гаметогенеза в предыдущем поколении. В. Аномальное деление зиготы или клеток эмбриона приводит к мозаицизму [458].



Оогонии

Первичные ооциты

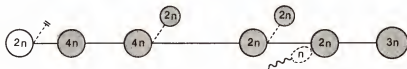
Вторичные ооциты

Зигота

Нормальный оогенез



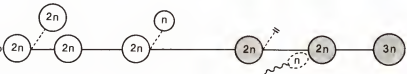
Тетраплоидный оогоний



Дефект 1-го мейотического деления

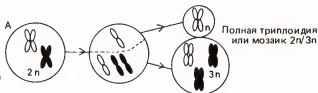


Дефект 2-го мейотического деления



Б

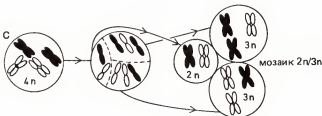
Нарушение сегрегации одного гаплоидного набора зиготы (или оплодотворенной яйцеклетки на более поздней стадии развития)



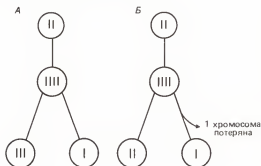
Трехполюсное деление триплоидной зиготы



Трехполюсное деление тетраплоидной зиготы



В



**Рис. 2.35.** Нерасхождение в митозе (А) и отставание в анафазе (Б). После того как гомологичные хромосомы удваиваются, три из образовавшихся четырех хроматид оказываются в одном продукте деления в следующей анафазе. Б. Одна хромосома отстает во время анафазного движения.

частота мозаиков, возникших в результате нерасхождения хромосом в митозе, не должна зависеть от возраста матери. Следовательно, долю мозаиков, возникших вследствие анафазного отставания, можно оценить при сравнении эффекта возраста матери на частоту мозаицизма и гаметических трисомий. Однако точную оценку получить трудно, поскольку некоторые мозаики не диагностируются: при ограниченном числе клеток, используемых для карiotипирования, aberrантные можно пропустить, т.к. их очень мало. Кроме того, мозаики с небольшим количеством aberrантных клеток характеризуются соответственно и невыраженными фенотипическими отклонениями (если таковые вообще есть). Такие мозаики обнаруживаются случайно, главным образом когда трисомные клетки имеются в их герминативной ткани и в потомстве встречаются трисомии. К настоящему времени среди описанных в литературе случаев мозаицизма 17–30% приходится на митотическое нерасхождение. Как и ожидалось, возраст матери был особенно низким в тех случаях, где доля трисомных клеток (в расчете на все исследованные) составляла менее одной трети [483]. Суммарная частота мозаиков среди всех с клиническими симптомами болезни Дауна составляет приблизительно 2%.

*Статистические проблемы выявления мозаицизма.* Насколько широко распространен хромосомный мозаицизм в популяции по сравнению с другими хромосомными aberrациями? Решение этого вопроса связано с анализом статистических проблем, суть которых состоит в оценке вероятности обнаружения мозаика в зависимости от доли aberrантных клеток в исследуемой ткани и от числа исследованных клеток в выборке. В большинстве опубликованных обзоров (разд. 5.1.2) обычно приводятся данные по небольшому (от 3 до 5) числу клеток одного индивида, в связи с чем доля мозаиков систематически занижается. Важно учесть, что в процессе получения препаратов какие-то хромосомы могут быть утрачены, т.е. возможны артефакты. Отметим также и то обстоятельство, что за короткое время трудно исследовать несколько сотен клеток от одного индивида. В работе Бочкова и сопр. (1974) [306] был предложен пригодный для практики компромисс.

Вначале принимаем допустимый предел для доли aberrантных клеток. Затем общее число клеток, необходимых для обнаружения с вероятностью 95% по крайней мере одной aberrантной клетки, определяется на основе биномиального закона. Так, вероятность того, что среди  $n$  проанализированных клеток не встретится ни одной аномальной клетки, составляет  $(1-p)^n$ , где  $p$  — допустимый предел для доли аномальных клеток. Разумно выбрать 25% как нижний предел, пригодный для диагноза мозаицизма, поскольку индивиды, имеющие менее 25% аномальных клеток, обычно характеризуются слабо выраженными клиническими проявлениями. Теперь допустим, что  $P_{1,n}$  — вероятность обнаружения по крайней мере одной аномальной клетки в выборке из  $n$  клеток:  $p = 0,25$ , тогда

$$P_{1,10} = 1 - (1 - 0,25)^{10} = 0,944, \text{ т.е. еще } < 0,95,$$

$$P_{1,11} = 1 - (1 - 0,25)^{11} = 0,958, \text{ т.е. уже } > 0,95.$$

Следовательно, число клеток, которое следует проанализировать, равно 11. Если анеуплоидная клетка не найдена, диагностируется отсутствие мозаицизма или, точнее, утверждается, что имеется не более чем 25% аномальных клеток. Если обнаружена более чем одна клетка с одной и той же аномалией, диагноз мозаицизма подтверждается. При наличии одной аномальной клетки это может быть проявлением мозаицизма или артефактом. Следовательно, размер выборки должен быть увеличен до таких размеров, чтобы обнаружить по крайней мере две аномальные клетки с  $P_{2,n} = 0,95$ .  $P_{2,17} = 0,951$ . Соответственно на втором этапе необходимо проанализировать еще шесть клеток в

дополнение к первоначальным 11. Если не найдено второй аномальной клетки с такой же абберацией, первая должна рассматриваться как артефакт. Если найдена вторая клетка, третью следует искать в выборке объемом в 23 клетки и т. д. Усовершенствованный метод предложен Хукком (Amer. J. Hum. Genet. 29, 94-97, 1977).

В клинической практике часто исследуют значительно большее число клеток, так как мозаицизм должен быть исключен с большой достоверностью, а также потому, что в некоторых случаях желательно обнаружить мозаицизм с очень малой пропорцией аномальных клеток.

## 2.2.2. Синдромы, связанные со структурными аномалиями аутосом

### 2.2.2.1. Кариотипы и клинические синдромы

*Первые наблюдения синдрома Дауна.* Как только трисомия 21 была идентифицирована как причина синдрома Дауна, естественно возник вопрос о том, у всех ли больных имеется эта трисомия. Если не у всех, то исключения могли бы представлять большой интерес. Так как риск мейотического нерасхождения, как уже тогда было известно, увеличивается с возрастом матери и поскольку единичное нерасхождение должно вести к появлению только одного пораженного потомка, исключения следовало искать среди пораженных детей молодых матерей, а также в семьях с двумя или более больными.

Полани и сотр. (1960) [479] исследовали трех таких больных с синдромом Дауна. У одной девочки, первого ребенка 21-летней матери и 23-летнего отца, они обнаружили 46 хромосом. Было найдено четыре хромосомы группы G. Однако одна хромосома из группы D имела удлиненное короткое плечо. Авторы предположили, что дополнительная хромосома 21 была транслоцирована на короткое плечо D-хромосомы. Очень скоро это предположение подтвердилось при исследовании семейных случаев. Две здоровые матери трех больных с синдромом Дауна и их общая бабка имели только 45 хромосом и только 3 стандартные хромосомы группы G. Однако одна из хромосом группы D (исследователи предположили, что это хромосома 15) имела удлиненное короткое плечо. Если это плечо содержит материал отсутствующей хромосомы 21, тогда кариотип этих женщин является сбалансированным, т. е. весь генети-

ческий материал диплоидного набора присутствует. С другой стороны, у некоторых из их потомков имеется хромосома с транслокацией, включающей большую часть материала хромосомы 21. Фактически у таких детей имеется трисомия 21 и возникает синдром Дауна, несмотря на то что формально число хромосом у них стандартное. Такой кариотип является несбалансированным. Примерно в то же время была описана первая транслокация G/G [354]. Вскоре после этого при исследовании первого мейотического деления у гетерозиготного носителя сбалансированной транслокации был обнаружен тривалент, т. е. фигура, состоящая из трех хромосом, и это послужило четким доказательством того, что нестандартная хромосома, обнаруженная в этих семьях, действительно несет транслокацию [373].

*Частота транслокационного синдрома Дауна.* Транслокация при синдроме Дауна объясняет много семейных случаев, но не все. Стандартная трисомия 21 может повторно возникать в одной и той же семье, указывая на наличие у родителей каких-то конституциональных факторов, предрасполагающих к нерасхождению, или мозаицизму (разд. 5.1.2). В табл. 2.3 приведены данные о частоте транслокационных случаев (наследуемых и спорадических) среди больных с синдромом Дауна для двух групп матерей: молодых и пожилых. Большинство случаев характеризуется описанными выше транслокациями G/G и G/G.

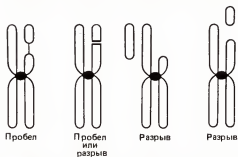
Существует, однако, небольшое число реципрокных транслокаций, в которые вовлекаются другие — неакроцентрические хромосомы. Детальное обсуждение различных структурных аббераций целесообразно предварить замечаниями относительно механизмов их образования.

*Пробелы и разрывы.* Необходимым условием возникновения структурной хромосомной перестройки любого типа является наличие в хромосоме разрыва. Если исходить из того, что ДНК представляет собой единую длинную нить, проходящую через всю хромосому, хромосомный разрыв предполагает и разрыв сахаро-фосфатного остова ДНК. В световом микроскопе бывает трудно отличить хромосомный разрыв от ахроматической (неокрашенной) области, называемой пробелом.

Таблица 2.3. Частота транслокаций у детей с синдромом Дауна [443]

Возраст матери меньше 30				Возраст матери больше 30			
Общее число больных	Число транслокаций			Общее число больных	Число транслокаций		
	спора-ди-че-ские	уна-следо-ван-ные	роди-тели не обследованы		спора-ди-че-ские	уна-следо-ван-ные	роди-тели не обследо-ваны
1431	69	32	14	1058	7	5	4
Всего	115 = 8,04%			Всего	16 = 1,51%		

Эти пробелы могут отражать как истинные разрывы, так и участки локальной деспирализации. Хромосомные разрывы часто учитывают при оценке мутационного процесса, поэтому необходимо прийти к соглашению относительно того, какие аберрации учитывать как разрывы, а какие – как пробелы. Схема, положенная в основу одного из таких соглашений, представлена на рис. 2.36. Указанные в ней отличительные признаки достаточно строгие и, вероятно, занижают количество разрывов. Разрывы и пробелы могут возникать во время интерфазы как до, так и после репликации ДНК. Если разрыв происходит до репликации, повреждение будет видно в последующей метафазе в обеих хроматидах (изохрома-

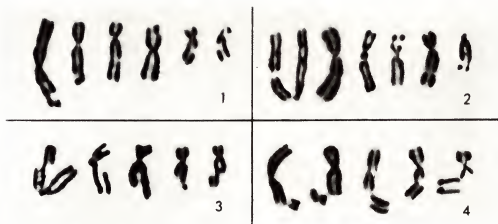


**Рис. 2.36.** Определение хромосомного пробела и разрыва. Пробел – отдельные сегменты не смещены, между ними может даже сохраниться связь. Если эта связь отсутствует, трудно решить, с чем мы имеем дело, с разрывом или пробелом. Две правые хромосомы демонстрируют разрывы с разной локализацией отделившихся сегментов. (Courtesy of Dr.T.M. Schroeder-Kurth.)

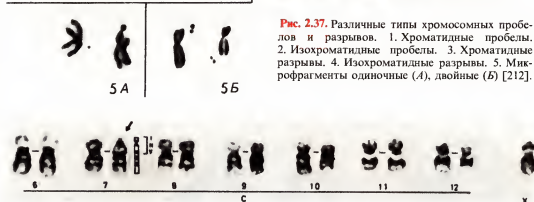
тидный разрыв). Если событие произойдет после фазы репликации, поврежденной окажется только одна хроматида (хроматидный разрыв). Различные типы разрывов и пробелов представлены на рис. 2.37.

*Судьба поврежденных хромосом.* Разрыв, происходящий в любом районе хромосомы и не затрагивающий центромеры, приводит к появлению укороченной хромосомы с центромерой и ацентрического фрагмента. Такой фрагмент иногда может формировать маленькое кольцо, но, будучи лишенным центромеры, чаще всего теряется в последующем митозе. Таким образом, разрыв хромосомы часто приводит к появлению клетки, лишенной хромосомного сегмента. В некоторых случаях, однако, целостность хромосомы, имеющей разрывы в двух точках, восстанавливается ферментами репарации. Механизмы такого воссоединения концов в настоящее время известны [456]. Если концы хромосомных фрагментов воссоединятся друг с другом удачно, то и хромосома, и клетка будут снова интактными. Действительно, исследования при заболеваниях, связанных с недостаточностью репаративных ферментов, показывают, что подобные события могут происходить многократно во многих тканях. В других случаях концы хромосомных фрагментов могут воссоединиться в точках разрыва других хромосом как гомологичных, так и негомологичных (при условии, что два разрыва происходят в пределах относительно короткого отрезка времени и достаточно близко друг от дру-





**Рис. 2.37.** Различные типы хромосомных пробелов и разрывов. 1. Хроматидные пробелы. 2. Изохроматидные пробелы. 3. Хроматидные разрывы. 4. Изохроматидные разрывы. 5. Микрофрагменты одиночные (А), двойные (В) [212].



**Рис. 2.38.** Перичентрическая инверсия хромосомы 7 у здорового мужчины, G-окрашивание. Инвертированный сегмент изображен схематически (INV). Другие хромосомы показаны для сравнения. (Courtesy of Dr.T.M. Schroeder-Kurth.)

га). Это приводит к образованию хромосомных перестроек различного типа.

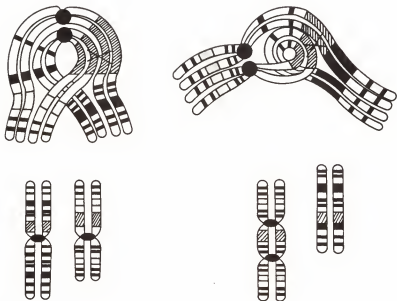
*Внутрихромосомные перестройки (внутренние обмены).* В пределах одной хромосомы могут произойти разрывы в двух разных участках, и фрагмент между точками разрыва, перевернувшись, может вновь соединиться с хромосомой. Такая перестройка (инверсия) не приводит к нарушениям в митозе, особенно если разрыв произошел в фазе  $G_1$ . Она может быть обнаружена методами дифференциального окрашивания. В тех случаях, когда инверсия не затрагивает центромеру, она называется парацентрической, если же точки разрыва находятся по обе стороны от цент-

ромеры, такую инверсию называют перичентрической. Гетерозиготы по инверсиям не очень редки в популяциях человека (рис. 2.38). Инверсии могут создавать затруднения в конъюгации гомологичных хромосом в мейозе и приводить к частичной элиминации некоторых типов половых клеток у гетерозигот по инверсиям (рис. 2.39). У гомозигот таких затруднений нет. Инверсии (особенно перичентрические), несомненно, играли важную роль в филогении высших приматов (разд. 7.2.1).

Другой тип внутренних обменов представляют кольцевые хромосомы (рис. 2.40). Перестройка этого типа возникает при утрате обоих теломерных участков хромосомы (как ацентрических фрагментов) и

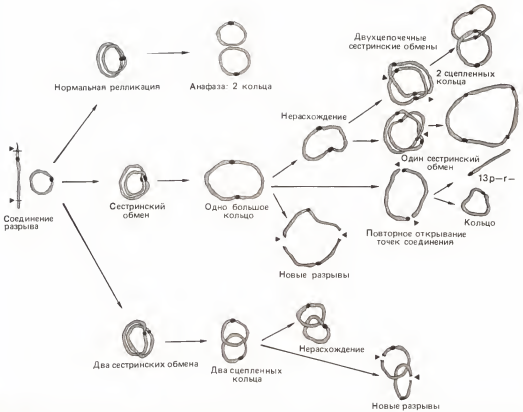
последующем воссоединении открытых концов. Судьба кольцевой хромосомы в митозе зависит от того, как завершилось воссоединение концов сестринских хроматид. Если во время репликации ДНК обмен между сестринскими нитями в точках разрыва не происходит, то кольцо, удваиваясь, образует два отдельных кольца, каждое со своей центромерой. Такие кольцевые хромосомы проходят через митоз без затруднений. Один обмен между сестринскими нитями ведет к образованию большого кольца с двумя центромерами. Дигентрическая структура обычно разрушается в наступающем митозе. Два обмена могут привести к образованию двух колец, «сцепленных» друг с другом подобно звеньям цепи. Детали различных вариантов представлены на рис. 2.40. Иногда хроматидные разрывы и образование колец происходит в фазе  $G_2$ , и тогда в отдельной клетке наблюдается картина, показанная на рис. 2.41.

*Межхромосомные перестройки (внешние обмены).* Во многих случаях воссоединение открытых концов затрагивает разные хромосомы как гомологичные, так и негомологичные. Если разрыв происходит в фазе  $G_1$ , то воссоединение обычно завершается в той же фазе  $G_1$  (или ранней S) перед репликацией ДНК. Если каждая из перестроенных хромосом сохраняет центромеру, то такие транслокационные хромосомы могут пройти через наступающий митоз без всяких затруднений. Если одна из перестроенных хромосом приобретает две центромеры, формируется дигентрическая хромосома. В зависимости от деталей репликации она может пройти через наступающий митоз при следующих условиях: 1) если обе центромеры отойдут к одному и тому же полюсу и 2) если репликация и сестринский хроматидный обмен между двумя центромерами не приведет к переплетению хроматид (рис. 2.42). Если разры-



**Рис. 2.39.** Нарушение спаривания хромосом во время мейоза у гетерозиготы по перичесентрической (слева) и парацентрической (справа) инверсии. Предполагают, что в обоих случаях кроссинговер происходит в сегментах, отмеченных на

рисунке крестом. Вследствие разрывов и обменов образуются аномальные хромосомы, что в свою очередь приводит к анеупloidии зиготы в ближайшем поколении.

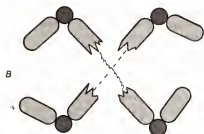
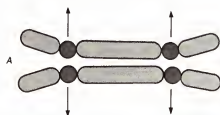


**Рис. 2.40.** Образование кольцевой хромосомы в фазе  $G_1$  и судьба такой хромосомы в митозе (r-—означает отсутствие кольца).



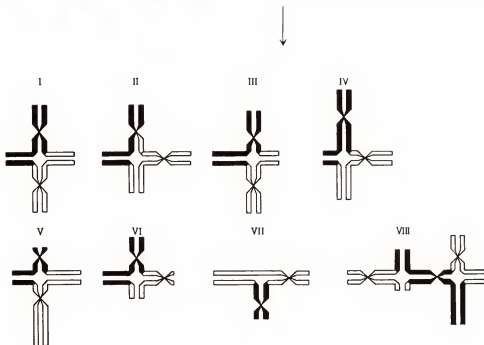
**Рис. 2.41.** Образование кольцевой хромосомы в фазе  $G_2$ . А. Два разрыва в одной из двух сестринских хроматид. Б. Воссоединение разорванных концов; спаривание фрагментов с гомологич-

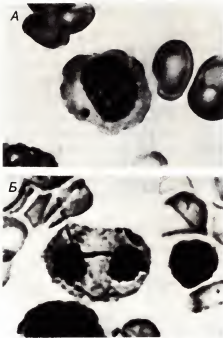
ными хроматидными сегментами. В. Та же кольцевая хромосома в метафазе человека. (Courtesy of, Dr.T.M. Schroeder-Kurth.)



**Рис. 2.42.** Дигентрическая хромосома в анафазе митоза. *А.* Обе центромеры направляются к одному и тому же полюсу; хромосомы остаются интактными. *Б.* Центромеры направляются к противоположным полюсам. Образуются анафазные мосты. *В.* Хромосомы разрываются.

**Рис. 2.43.** Классы обменов, возникающих после транслокации в фазе  $G_2$ . *В* обмене участвуют две гомологичные хромосомы. I. Альтернативное положение центромер; обмен фрагментами равной длины. II. Смежное положение центромер; обмен фрагментами равной длины. III. Альтернативное положение центромер; обмен фрагментами разной длины. IV. Смежное положение центромер; обмен неравными фрагментами. *В* обмене участвуют две негомологичные хромосомы. V. Альтернативное положение центромер. VI. Смежное положение центромер. VII. Триадная конфигурация (необходима утрата фрагментов). VIII. Пример фигур с тремя хромосомами.





**Рис. 2.44.** А. Образование микроядер вследствие хромосомных aberrаций в костном мозге больного с анемией Фанкони. Б. Анафазный мост, образованный дицентрической хромосомой (у того же больного) [212].

вы и воссоединения концов завершатся после репликации ДНК, то затронутой окажется только одна сестринская хроматида каждой хромосомы. Воссоединенные сестринские хроматиды еще останутся спаренными с их неповрежденными партнерами. Это ведет к межхромосомным обменам, которые обнаруживаются в первом митотическом делении после воссоединения. Различные типы этих обменов показаны на рис. 2.43.

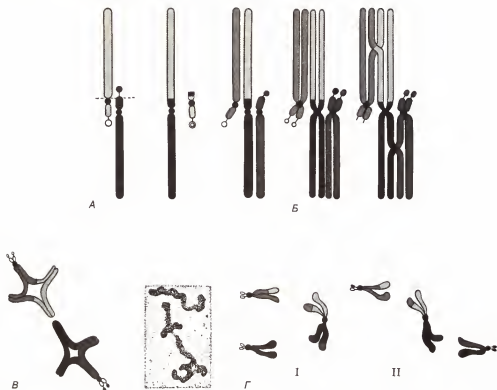
Если каждая из перестроенных хромосом сохранит центромеру (рис. 2.43; класс I, III и V), то анафазное расхождение хроматид в обеих таких хромосомах будет протекать без всяких затруднений. Однако если обе центромеры окажутся в одном и том же сегменте, то образующиеся дочерние клетки в любом случае будут анеуплоидными: либо центромеры отойдут к разным полюсам и возникнет «анафазный

мост», который приведет в конце концов к разрыву, либо две центромеры отойдут к одному и тому же полюсу. В этом случае перестройка завершится только негомологичным воссоединением (рис. 2.43, классы VI, VII). Дальнейшие события откладываются до следующего митоза, в котором появляется дицентрическая хромосома. Иногда она может пройти и этот митоз. В любом случае, однако, при указанных выше условиях межхромосомные обмены, как правило, приводят к гибели клеток вследствие анеуплоидии или нарушений в митозе.

В соматических тканях человека многие из этих митотических нарушений можно видеть даже в рутинных клеточных препаратах, приготовленных без использования специальных хромосомных методик. На рис. 2.44, А и Б показаны анафазные мосты и так называемые микроядра в клетках костного мозга человека. Микроядра формируются теми хромосомами (или хромосомными фрагментами), которые не связаны с митотическим аппаратом



**Рис. 2.45.** Преждевременная конденсация хромосом: профазоподобные хромосомы из микроядер вместе с некоторыми другими, нормальными метафазными хромосомами. (Courtesy of Dr. T. M. Schroeder-Kurth.)



**Рис. 2.46.** А. Возможное происхождение хромосомы, несущей D/D-транслокацию и варианты ее спаривания с двумя гомологичными хромосомами во время мейотической профазы. Б. Транслокационная хромосома и два ее гомологичных партнера после репликации без кроссинговера (слева) и с кроссинговером (справа). В. Теоретически ожидаемые результаты транслокации (три-

валент) в диакинезе и метафазе I (слева) и сравнение их с действительно наблюдаемой картиной (справа). Г. Хромосомы, участвующие в образовании тривалента, вероятно, распределяются по дочерним клеткам на два класса, дающие разные типы сбалансированных (I) и несбалансированных (II) гамет [405].

и не принимают участия в митозе, как остальные хромосомы. Это сопровождается преждевременной конденсацией таких хромосом и их фрагментов. В метафазных хромосомах основного ядра хроматиды имеют обычно нормальную степень конденсации, в то время как хромосомы микроядра конденсированы по типу профазных (рис. 2.45). Эти цитологические феномены полезно использовать для экспресс-оценки мутагенных агентов (разд. 5.2). Преждевременную конденсацию хромосом можно увидеть также *in vitro* при слиянии интерфазной клетки с другой, находящейся в

предмитотической фазе [500]. Этот метод пригоден для изучения строения хромосом в интерфазном ядре.

Транслокации могут привести к нарушениям и в мейозе, так как на ранних стадиях этого деления гомологичные хромосомы конъюгируют. Если в перестройке участвуют три хромосомы, как, например, у носителей сбалансированных транслокаций D/G или G/G, в метафазе I они образуют так называемые трехзвенные цепочки. На рис. 2.46 показана такая структура у носителя сбалансированной D/D-транслокации. На рис. 2.46, А и Б представлена

схема событий, которые происходят с этой хромосомой на стадии пахитены в процессе кроссинговера; на рис. 2.46, В – картина, которую можно ожидать в диакинезе, если каждая из двух свободных хромосом имеет один перекрест с транслокационной хромосомой. Для сравнения показана трехзвенная цепочка в том виде, как она наблюдается реально. Если в перестройку вовлечены четыре хромосомы, то образуется четырехзвенная цепочка. Такое событие ведет иногда к последующей анеуплоидии в зависимости от комбинаторики анафазных движений четырех центромер. Если две центромеры одного элемента отходят к одному полюсу и если хроматиды не переплетутся между центромерами, то деление завершится нормальной анафазой. Однако очень часто происходят дополнительные разрывы хромосом. Мейоз служит хорошим фильтром для хромосомных перестроек.

Хромосомные разрывы имеют место как в соматических, так и в половых клетках. Изучение этих явлений в соматических клетках актуально с точки зрения мутационных исследований (разд. 5.2). Разрывы хромосом в половых клетках могут передаваться следующему поколению, что часто приводит к гибели зиготы на эмбриональной стадии. Однако в некоторых случаях хромосомная aberrация оказывается совместимой с постнатальной жизнью, и это приводит к рождению ребенка с хромосомным синдромом. Прежде чем перейти к анализу некоторых из этих синдромов, необходимо описать общепринятую номенклатуру кариотипа человека. Эта номенклатура была разработана группой цитогенетиков и согласована на Парижской конференции в 1971 г. [468].

*Описание кариотипа человека.* При описании кариотипа человека прежде всего указываются общее число хромосом и набор половых хромосом. Затем отмечается, какая хромосома лишняя, какой не хватает, а также структурно измененные. Некоторые примеры представлены в табл. 2.4.

Таблица 2.4.

46, XX	Нормальный женский кариотип
46, XY	Нормальный мужской кариотип
47, XY, + G	Мужской кариотип с 47 хромосомами; одна G-хромосома лишняя
47, XY, +21	То же; добавочная хромосома идентифицирована как 21
46, XY, 1q +	Мужской кариотип с 46 хромосомами; длинное плечо (q) одного из гомологов хромосомы 1 длиннее, чем в норме
47, XY, +14p +	Мужской кариотип с 47 хромосомами, включая добавочную хромосому 14 с удлинненным коротким (p) плечом
45, XX, – D <sub>1</sub> – G, + t(DqGq)	Женский кариотип, сбалансированная робертсоновская транслокация, образованная соединением длинных плеч одной D- и одной G-хромосомы
46, XY, – 5, – 12, t(5p12p), t(5q12q)	Мужской кариотип с двумя отдельными робертсоновскими транслокациями с вовлечением в обмена целиком обоих плеч хромосом 5 и 12. Разрывы произошли по центромере или очень близко от нее; отсутствует информация о том, какая центромера имеется в том или ином продукте перестройки.
Изменения длины вторичных перетяжек или неокрашивающихся районов следует отличать от увеличения или уменьшения длины плеча в целом, что связано с другими структурными изменениями. С этой целью специальный символ «h» помещают между символом плеча и знаками + или –	
Например: 46, XY, 16qh +	Мужской кариотип с 46 хромосомами, в котором выявлено увеличение длины вторичной перетяжки в длинном плече хромосомы 16

Все символы перестроек помещают перед обозначением вовлеченных хромосом, а перестроенные хромосомы (или хромосома) всегда должны быть заключены в скобки:

46, XX, r(18) Женский кариотип с 46

хромосомами и кольцевой хромосомой 18

46, X, i(Xq) Женский кариотип с 46

хромосомами, с одной нормальной X-хромосомой и одной изохромосомой i по длинному плечу

Интенсивность флуоресценции при использовании Q-метода описывается следующим образом:

Негативная Нет или почти нет флуоресценции

Тусклая Как в дистальном районе более короткого плеча 1-й хромосомы (1p)

Средняя Как в двух крупных сегментах в 9q

Интенсивная Как в дистальной половине 13q

Яркая Как в дистальном районе Yq

**Номенклатура хромосомных сегментов.** Каждая хромосома рассматривается как совокупность чередующихся сегментированных и несегментированных участков, границы которых указываются специальными метками. Сами сегменты и районы, которым они принадлежат, обозначаются порядковыми числами, причем центромера служит исходной точкой для цифровой схемы. При обозначении любого отдельного сегмента используются четыре метки: номер хромосомы, символ плеча, номер района и номер сегмента в пределах этого района. Например, запись 1p33 означает, что речь идет о хромосоме первой пары, ее коротком плече, районе 3, сегменте 3. Сведения о номерах районов и сегментов можно почерпнуть из рис. 2.12; в табл. 2.5 приводятся рекомендуемые сокращения. Некоторые примеры иллюстрируют принцип описания.

**Изохромосомы** (всегда сокращенное и точное обозначение):

46, X, i (Xq)

46, X, i (X) (qter → cen → pter)

Точка разрыва находится в центромере или близко от нее и не может быть точно установлена. Обозначение указывает, что

Терминальная делеция:

46, XX, del (1) (q21)

46, XX, del (1) (pter → q21)

два длинных плеча X-хромосом имеются в наличии и разделены центромерой

Запись указывает на разрыв в сегменте 1q21 и делецию всех других сегментов длинного плеча дистальнее этого. Перестроенная хромосома состоит из целого короткого плеча и части длинного плеча, лежащего между центромерой и сегментом 1q21

**Реципрокные транслокации:**

46, XY, t (2; 5) (q21; q31)

46, XY, t (2; 5) (2pter → 2q21;

5q31 → 4qter; 5pter → 5q31;

2q21 → 2qter)

Разрыв и воссоединение произошли в сегментах 2q21 и 5q31, принадлежащих каждому длинному плечу хромосомы 2 и 5 соответственно. Районы, дистальные по отношению к этим, оказались вовлеченными в обмен между двумя хромосомами. Отметим, что в транслокационном производном хромосоме с меньшим номером (т. е. 2) указывается первой

Эти примеры должны разъяснить символы, употребляемые в нашей книге и в цитогенетических публикациях. Применение дифференциального окрашивания и высокоразрешающая сегментация требуют логического расширения номенклатуры (см. рис. 2.16).

**Делеционные синдромы.** Индивид, гетерозиготный по делеции, является моносомом по соответствующему району хромосомы. Де Груши и сотр. (1963) [367] первыми описали делецию del 18p, однако делеционный синдром впервые был обна-

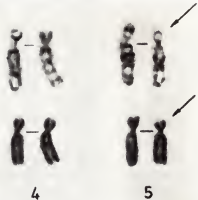


**Таблица 2.5.** Номенклатурные символы, дополненные к тем, которые рекомендованы Чикагской конференцией (1966). (Парижская конференция, 1971 [468].)

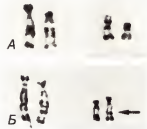
del	Делеция
der	Производная хромосома
dup	Дупликация (удвоение)
ins	Инсерция (вставка)
inv ins	Инвертированная инсерция
rec	Реципрокная транслокация
rec	Рекомбинантная хромосома
rob	Робертсоновская транслокация (центрическое слияние)
tan	Тандемная транслокация
ter	Терминальный или концевой (pter – конец короткого плеча, qter – конец длинного плеча)
:	Разрыв (без соединения, как терминальная делеция)
::	Разрыв и соединение
→	От – к

ружен Леженом и сотр. в 1963 г. [418]. Ими были выявлены трое детей с делецией короткого плеча хромосомы 5 (del 5p-). Кроме обычных признаков аутосомных аномалий (общее отставание в развитии и низкий вес при рождении) у этих детей отмечалось лунообразное лицо с гипертелоризмом (широко расставленные глаза). Во внешнем облике больных не было каких-то ярких особенностей (рис. 2.47), однако их плач напоминал мяуканье кошки (cri du chat или cat cry).

Существует несколько разных механизмов возникновения делеций и соответственно разные типы самих делеций: 1) истинная концевая делеция, 2) интерстициальная делеция и 3) делеция в результате транслокации. Во многих сообщениях указывается на наличие при синдроме «кошачьего крика» транслокации. На рис. 2.48 представлена часть кариотипа пробанда с хромосомой 5p-. Делетированный участок включает 5p15 и часть 5p16 сегментов. У фенотипически нормальной матери обнаружена такая же хромосома 5, но одна из хромосом 17-й пары имела лишний сегмент на длинном плече между 17q12 и 17q21. Следовательно, концевой сегмент хромосомы 5 содержится в длинном плече хромосомы 17. Случай, выявленный при помощи G-метода (рис. 2.47), иллюстрирует пример истинной концевой делеции.

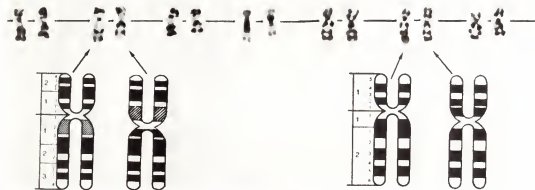


**Рис. 2.47.** Часть кариотипа в случае синдрома кошачьего крика – делеция 5p.



**Рис. 2.48.** А. Часть кариотипа больного с синдромом кошачьего крика, имеющего делецию концевой сегмента хромосомы 5. Б. Сбалансированная транслокация у матери этого больного. Концевой сегмент хромосомы 5 встроен в хромосому 17 [300].

*Внутренние обмены: парацентрические и перичентрические инверсии* [401a]. Парацентрические инверсии (т.е. не вовлекающие центромеру) у человека обнаруживаются с большим трудом. Они будут обсуждаться в контексте хромосомной эволюции (разд. 7.2.1). Начиная с 60-х гг. было опубликовано много работ о предполагаемых перичентрических (т.е. захватывающих центромеру) инверсиях. У некоторых носителей таких инверсий выявлены различные аномалии типа умственной отста-



**Рис. 2.49.** Хромосома 9 от разных гетерозигот по одинаковой инверсии  $inv\ 9\ (p1; q13)$ . В каждой паре *слева* помещен нормальный гомолог, *справа* – инвертированная хромосома, три препарата окрашены по G-методу, один – по C-методу. Две правые пары хромосом принадлежат индивиду со вторичной перетяжкой в нормальном гомологе.

лости или пороков развития. Фенотип других не обнаруживал каких-либо заметных отклонений, но в браках с ними регистрировались повторные спонтанные аборты. У представителей третьей группы не обнаружено вообще никаких аномалий. Следует отметить, что при использовании обычных методов окрашивания хромосом перичентрические инверсии выявляются относительно редко.

С внедрением в широкую практику методов дифференциального окрашивания появились сообщения о более высокой частоте инверсий в некоторых популяциях. Довольно часто в эти перестройки вовлекается хромосома 9. Именно такая ситуация обнаружена в Финляндии [323]. При анализе кариотипов 631 жителя этой страны по различным диагностическим поводам у 9 была обнаружена перичентрическая инверсия и в 6 случаях – в хромосоме 9. Все эти 6 инверсий оказались идентичными. У трех пробандов инверсия была обнаружена в хромосоме 10: при этом у двух одинаковая, а у третьего отличная от них. Инверсию в хромосоме 9 может легко распознать и неспециалист (рис. 2.49), так как типичная вторичная перетяжка оказывается в этом случае не в длинном, а в коротком плече.

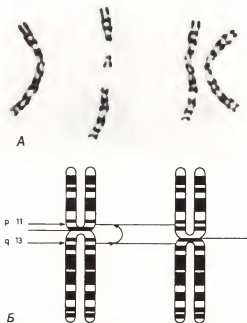
**Рис. 2.50.** Хромосома 10 от разных индивидов, гетерозиготных по одинаковой инверсии  $inv\ (p1; q21)$ . В каждой паре нормальный гомолог помещен *слева*, а инвертированная хромосома – *справа*. Препараты окрашены G-методом.

Идентификация инверсии в хромосоме 10 требует особого опыта (рис. 2.50).

При исследовании мейоза у двух пробандов с инверсией хромосомы 9 идентифицированный бивалент 9 имел нормальную морфологию, но около вторичной перетяжки не было выявлено ни одной хиазмы. Весьма вероятно, что инверсии приводят к несовершенной конъюгации и к подавлению кроссинговера, как это хорошо известно на примере других организмов, в частности у дрозофилы. Подобные инверсии можно использовать для региональной локализации генов соответствующих районов хромосомы 9 (разд. 3.4). Эти инверсии не влияют на мейотическую сегрегацию хромосом и не приводят к пренатальной гибели гетерозигот, как это следует из специальных работ (см. разд. 3.3); в браках между нормальной гомозиготой и гетерозиготой по  $inv\ (9)$  25 потомков имели нормальный кариотип, 23 – были гетерозиготами. Аналогично для двух типов  $inv\ (10)$  суммарно это отношение оказалось равным 10:11. Еще в одном браке между двумя гетерозиготами по инверсии, оказавшимися дальними родственниками, среди детей обнаружена одна гомозигота. Такого рода наблюдения проливают свет на механизмы хромосомной эволюции (разд. 7.2.1).

Как отмечалось выше, пробанды в этом исследовании направлялись на консультацию с диагностическими целями, поэтому вряд ли неожиданным является тот факт, что у них выявлены разнообразные аномалии. Однако эти аномалии трудно было охарактеризовать как единый синдром. Более того, среди родственников с инверсиями были и вполне нормальные в клиническом отношении. Следовательно, весьма вероятно, что инверсии в хромосомах 9 и 10 не влияют ни на фенотип носителей, ни на их плодovitость.

Перицентрические инверсии обнаружены и в хромосоме 2 (рис. 2.51) [419]. В этом сообщении речь идет о трех семьях. Две из них обследованы по поводу рождения детей с пороками развития, тогда как третья — по поводу привычных выкидышей, т.е. эта выборка является сильно смещенной и возможность того, что привычные выкидыши могут быть вызваны инверсиями, исключить нельзя. Исследуя происхождение семей этих пробандов в разных странах, авторы указывают, что вряд ли данная инверсия имеет



**Рис. 2.51.** Перицентрическая инверсия в хромосоме 2. А. G-окрашивание. Б. Схематическое изображение сегментации [419].



**Рис. 2.52.** Рекомбинационная анеусомия. Кариотип пробанда с пороками развития и его нормальной матери (Q- и G-окрашивание). Пояснение в тексте. А. Часть кариотипа с хромосомой 10 матери. Б. Часть кариотипа с хромосомой 10 сына [340].

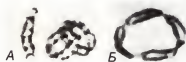
общее происхождение. Они ссылаются на случай, где та же инверсия описана как новая мутация [383]. Более вероятным им представляется предположение о повышенной ломкости хромосомы в соответствующем сегменте. Однако ссылка на новую мутацию была привлечена до того, как стали применяться методы дифференциального окрашивания.

Очень маленькие инверсии могут встречаться в отдельных популяциях довольно часто, так как скорее всего они совершенно не влияют на состояние здоровья или плодovitость. Если инверсия затрагивает протяженный участок хромосомы, то возможность нарушений в мейозе более вероятна. Однако сами носители инверсий эуплоидны, поэтому вряд ли следует ожидать у них какие-либо фенотипические аномалии.

**Рекомбинационная анеусомия.** Встречаются семьи, в которых один из родителей, по-видимому, имеет такую же аберрацию, что и ребенок, например перицентрическую инверсию или транслокацию. При этом родитель фенотипически нормален, в то время как у ребенка обнаруживается тяжелый синдром нарушения развития. Факты такого рода можно объяснить случайным



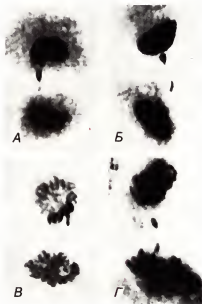
**Рис. 2.53.** Рисунок сегментации моноцентрической (слева) и дицентрической (справа) кольцевой хромосомы [382].



**Рис. 2.54.** А. Два соединенных двойных кольца из диплоидной клетки рядом с другой хромосомой 13-й пары. Б. Тетрацентрическое кольцо из тетраплоидной клетки [382].

сочетанием в одной семье наследуемого полиморфного хромосомного варианта и каких-то нарушений развития различной этиологии. Однако в других случаях кроссинговер в участке инверсии или транслокации между аномальной хромосомой и ее нормальным гомологом может вести к появлению несбалансированных наборов хромосом в половых клетках. Такое объяснение было выдвинуто Леженом и Берже еще в 1965 г. [416], но его подтверждение получили только после появления методов дифференциального окрашивания.

Впервые указанный механизм удалось продемонстрировать реально в работе [340]. Речь идет о мальчике с множественными пороками развития. На рис. 2.52 показаны хромосомы 10 этого пробанда и его матери. Можно видеть, что у матери имеется большая перичентрическая инверсия. Кроссинговер в пределах этой инверсии привел к появлению аномальной хромосомы, в результате чего ребенок оказался трисомиком по сегменту q456. Без применения метода дифференциального окрашивания все С-хромосомы (группа 6-X-12) были бы классифицированы как нормальные и кариотипы матери и ребенка рассматривались бы как иден-



**Рис. 2.55.** Дицентрическое кольцо может разрываться на две равные (Б, Г) или две неравные (А, В) части [382].

тичные. Высокорешающие методы позволяют выявлять такие случаи.

**Кольцевые хромосомы.** Иная ситуация характерна для кольцевых хромосом. Поскольку образование кольца, как полагают, связано с утратой теломерных сегментов хромосомы, носители кольцевых хромосом должны напоминать носителей соответствующих делеций. Например, если в коль-

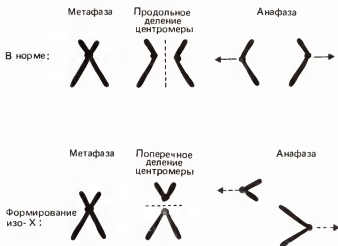


Рис. 2.56. Образование изохромосом путем разделения центромеры.

цевую перестройку вовлечена хромосома 5p, у пробанда может наблюдаться синдром «кошачьего крика» [455]. В других случаях в зависимости от размеров делетированного участка симптомы могут быть менее выраженными.

Так, например, кольцевая хромосома 13 была обнаружена у 14-месячного ребенка с умственной отсталостью и такими признаками, как микроцефалия, зпикант, широкая спинка носа, выступающие ушные раковины, микрогнатия [382]. В 85% лимфоцитов крови и в 82% фибробластов кожи выявлялось простое кольцо, идентифицированное как 13r (p11; q34). В 7% лимфоцитов и в 6% фибробластов можно было наблюдать двойное дицентрическое кольцо, которое состояло из двух хромосом 13. В 5% лимфоцитов и в 8% фибробластов кольцо отсутствовало, одна метафаза была с двумя сцепленными двойными кольцами, остальные клетки содержали другие аномалии. На рис. 2.40 показана судьба кольцевой хромосомы в митозе. В большинстве случаев кольцо реплицируется и проходит через митоз нормально. Иногда происходит один сестринский обмен и формируется двойное кольцо с двумя центромерами. Двойной сестринский обмен может привести к образованию двух сцепленных колец. В следующей интерфазе двойное кольцо может снова претерпеть один, два или более сестринских обмена, что в свою очередь приведет к двойным сцепленным кольцам или к четверным кольцам. Таким образом, возможно

большое число разных вариантов. На рис. 2.53 представлено двойное сцепленное кольцо, на рис. 2.54,4 – четверное кольцо. Многие из этих заново формирующихся колец ведут к нарушениям в митозе вследствие все большего числа разрывов и последующей анеуплоидии в дочерних клетках. На рис. 2.55 показана анафаза с разрывами дицентрических колец на равные и неравные части. Большая часть теоретически возможных конфигураций (рис. 2.40) действительно наблюдалась в данном случае.

**Фрагменты.** Хромосомные фрагменты, не содержащие центромеры или ее части (так называемые ацентрические фрагменты), в митозе и мейозе обычно теряются, но при наличии центромеры они могут сегрегировать как дополнительные, маркерные, хромосомы. При исследовании случайной выборки новорожденных в Дании (разд. 5.1.2.1) такие маркеры оказались не редкими; в некоторых случаях у носителей этих маркерных хромосом обнаруживаются фенотипические аномалии.

**Изохромосомы.** Иногда выявляются хромосомы, оба плеча которых идентичны. Их называют изохромосомами. Можно предположить, что они возникают вследствие аномального разделения метафазной хромосомы, как показано на рис. 2.56. Если в



**Рис. 2.57.** Принцип центрического слияния (робертсоновская транслокация). Две акроцентрические хромосомы утратили свои короткие плечи, а длинные плечи слились. Транслокационная хромосома может иметь одну или две центромеры; в последнем случае одна из центромер может

быть супрессирована. В любом случае у сбалансированной гетерозиготы количество хромосом будет на единицу меньше, чем у нормального индивида. (При реципрокной транслокации образуется сбалансированная зигота с нормальным числом хромосом.)

такую перестройку вовлекается неравноплечая хромосома, то может образоваться изохромосома и по короткому, и по длинному плечу. Относительно часто наблюдаются изохромосомы X. В случае изохромосомы по длинному плечу X, i (Xq) развивается синдром Тернера, поскольку данная хромосома всегда инактивирована и активной остается только одна нормальная X-хромосома (разд. 2.2.3).

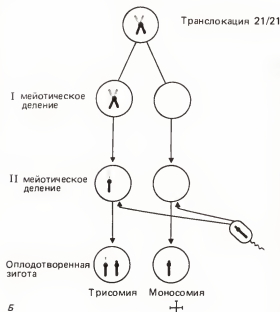
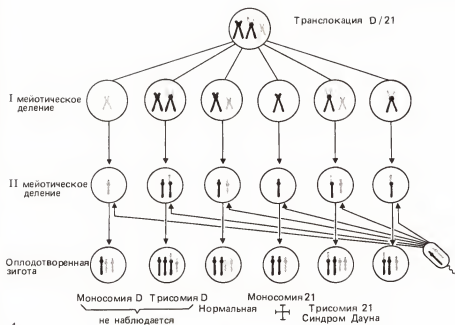
*Межхромосомные обмены: центрические слияния (робертсоновские транслокации).* Центрическое слияние является наиболее частым типом хромосомных перестроек в человеческих популяциях. Первые описанные случаи транслокационного синдрома Дауна были связаны с центрическим слиянием между длинным плечом хромосомы 21 и одной из D- или G-хромосом. Впоследствии о таких больных сообщалось неоднократно. Среди всех случаев синдрома Дауна транслокации этого типа составляют всего лишь несколько процентов, и многие из них являются вновь возникшими. Важно, что в центрическое слияние

могут вовлекаться все пять пар акроцентрических хромосом. Короткие плечи этих хромосом содержат ядрышковые организаторы, в частности гены рРНК (разд. 2.3). При этом в интерфазном ядре короткие плечи, включая центромерные районы, располагаются в тесной близости от ядрышка. Благодаря применению методов дифференциального окрашивания появилась возможность исследовать участие отдельных D- и G-хромосом в центрических слияниях. Оказалось, что оно не является случайным (табл. 2.6). Данные, представленные в этой таблице, основаны на исследовании новорожденных. Следует учесть, что результаты могут быть искажены из-за неодинаковой частоты эмбриональной смертности в различных группах. Центрическое слияние означает, что короткие плечи двух акроцентрических хромосом и, вероятно, одна из центромер утрачены (рис. 2.57), т.е. утрачены также и гены рибосомной РНК. Действительно, по данным ДНК—РНК-гибридизации среднее число генов рРНК меньше у так называемых сбалансированных носителей центрических слияний, чем в общей популяции [1020, 1061]. Однако это не приводит к каким-либо функциональным различиям, и носители таких хромосом совершенно здоровы.

**Таблица 2.6.** Хромосомы, вовлеченные в робертсоновские транслокации. (Семейный материал, проанализированный Шефером [501a].)

	14	15	21	22
13	101	8	10	6
14		8	45	3
15			17	3
21				17
22				

На рис. 2.58 показаны возможные комбинации хромосом в половых клетках носителя D/G- и G21/G21-транслокации. После оплодотворения нормальным сперматозоидом возможны шесть разных вариантов. Однако первые два—моносомия D и трисомия D—никогда не наблюда-



**Рис. 2.58.** А. Схема образования половых клеток у женщины-носителницы сбалансированной транслокации D/21: одна D-хромосома приобретает транслоцированное длинное плечо хромосомы 21. В результате остается только одна свободная хромосома 21. Поскольку эта свободная хромосома 21 и две D-хромосомы комбинируются случайно, теоретически может образоваться шесть разных типов гамет и после оплодотворения нормальным сперматозоидом соответственно шесть разных типов зигот. Однако три типа из шести возможных не обнаруживаются. Остальные индивиды либо нормальны, либо имеют сбалансированный кариотип, либо трисомии. Б. Образование половых клеток с транслокацией 21/21 и 21-изохромосомой. Существует две возможности: если транслоцированная хромосома попадет в половую клетку, то зигота окажется функционально трисомной и у ребенка будет синдром Дауна; в том случае, если транслокационная хромосома не попадет в половую клетку, зигота будет лишена хромосомы 21 и погибнет.

лись, а моносомия 21 по крайней мере в большей части известных случаев летальна. Каждый из остальных трех вариантов — трисомия 21, сбалансированная транслокация и нормальный набор — ожидается с вероятностью 1/3. Это ожидание, однако, не подтверждается на практике: когда мать является носителем, вероятность составляет около 15%, а если носитель отец, вероятность не превышает 5%. Однако риск появления сбалансированной транслокации составляет, как и ожидается, ~ 50%.

При транслокации 21/21 (как и в случае 21/21 изохромосомы) прогнозы намного более мрачные: либо ребенок будет трисомиком с синдромом Дауна, либо анеуплоидия будет летальной. К счастью, в настоящее время можно при помощи методов дифференциального окрашивания отличить транслокацию 21/21 от транслокации 21/22, при которой вероятность анеуплоидных зигот намного меньше — такая же, как и в случае D/G-транслокаций.

*Межхромосомные обмены: реципрокные транслокации.* В отличие от центрических слияний реципрокные транслокации не обязательно связаны с утратой материала. Фрагменты хромосом воссоединяются в новых комбинациях, но с сохранением в зиготе эуплоидного числа 46, а не 45, как при центрических слияниях. На рис. 2.60 представлены типы дочерних клеток, которые можно ожидать в случае реципрокных транслокаций. Чаще всего выявляются только частичные трисомии и частичные моносомии. Другие комбинации, как полагают, летальны.

Типичный случай описан в работе [504]. На рис. 2.61 показаны два умственно отсталых ребенка в возрасте 11 и 9 лет. В их фенотипе обнаружены как конкордантные, так и дискордантные признаки (табл. 2.7). При исследовании кариотипа обычным методом у обоих детей выявлено удлинение длинного плеча одной из C-хромосом (рис. 2.62); у матери и бабушки (по линии матери) обнаружена такая же хромосома и, кроме того, другая аномальная хромосома в группе C (6-X-12), у которой почти полностью отсутствовало короткое плечо (рис. 2.63). С помощью G-метода у матери выявлена реципрокная транс-

**Таблица 2.7.** Конкордантные и дискордантные признаки [504]

#### *Конкордантные*

Умственная отсталость  
Уменьшение размеров тела  
Долихоцефалия  
Аномалии зубов  
Гипопластические и гипотонические скелетные мышцы  
Стопа-качалка  
Брахимезофалангия III пальца

#### *Дискордантные*

##### *девочка*

Низкий рост волос  
Высокое и узкое небо  
Низко расположенные ушные раковины  
Периферическая нейропатия (N. tibialis, N. fibularis)

##### *мальчик*

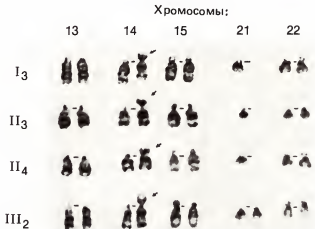
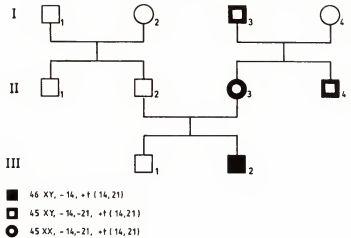
Судороги  
Заячья губа и не-  
заращение неба  
Дисплазия ушных раковин  
Сколиоз  
Камптодактилия

локация между хромосомами 7 и 10, кариотип 46, XX, t (7; 10) (p22; p11). Результатом такой перестройки является частичная трисомия 10p + у обоих детей. Особенность данного случая заключается не только в конкордантности многих признаков у обоих детей, что укладывается в единый клинический синдром, но и в наличии ряда дискордантных симптомов, что указывает на изменчивость фенотипических аномалий, вызванных одной и той же хромосомной аберрацией.

*Основные фенотипические проявления ауто-  
сомных аберраций.* Наиболее заметной особенностью фенотипов при ауто-сомных аберрациях является очень частое совпадение многих признаков и симптомов. Основные признаки:

- Общие*  
низкий вес при рождении  
резкая задержка развития  
умственная отсталость (обычно тяжелая)  
низкий рост
- Голова и лицо*  
микроцефалия  
неполная оксификация  
микрогнатия  
аномальное расположение глаз  
«дизморфическое лицо»

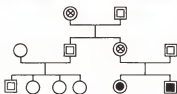




**Рис. 2.59.** Родословная ребенка с синдромом Дауна и робертсоновской транслокацией 14/21 (III, 2). Мать (II, 3), ее брат (II, 4) и дед по материнской линии (I, 3) имеют сбалансированный кариотип. (Courtesy of Dr.T.M. Schroeder-Kurth.)



**Рис. 2.60.** Реципрокная транслокация. Сбалансированная зигота имеет 46 хромосом; в двух хромосомах видны комплементарные структурные аномалии.



⊗ 46,t(7p+,10p-)

● ■ 46,t(7p+)

⊗ □ Исследованные лица

Б

**Рис. 2.61.** А. Брат и сестра с тяжелыми пороками развития и умственной отсталостью. Б. Родословная этих sibсов (мать несет сбалансированную транслокацию; дети – частичные трисомии 10p+).

низко расположенные и деформированные ушные раковины

в) Верхние и нижние конечности  
аномальный дерматоглифический рисунок

г) Внутренние органы  
врожденный порок сердца и/или крупных сосудов  
пороки развития мозга  
пороки развития мочеполовой системы

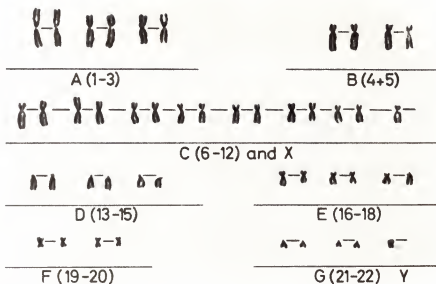
Следующие признаки обычно не указываются как характерные для аутосомных аномалий и описываются как исключения:

умственная отсталость без каких-либо пороков развития  
пороки развития при нормальном психическом развитии  
изолированные (одиночные) пороки развития.

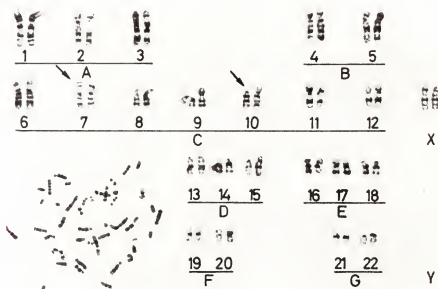
При многих, хотя и не при всех аутосомных aberrациях, кроме этих общих пороков развития находят более или менее специфичные. Важно отметить, что и общие признаки могут проявляться с большей или меньшей тяжестью. Ряд признаков, причиной которых является специфическая aberrация, обычно формируют неслучайное сочетание, характерное именно для данной aberrации. Подозрение на хромосомный дефект может возникнуть при клиническом обследовании, но ставится диагноз только на основе хромосомного анализа. Наличие характерных симптомов указывает на необходимость исследования хромосом.

У разных больных с одинаковой aberrацией многие характеристики одного синдрома сильно варьируют. Так, при синдроме Дауна, например, в ряде случаев умственная отсталость может быть выражена в незначительной степени, в то время как в большинстве случаев наблюдается олигофрения тяжелой степени; кроме того, пороки сердца находят у многих таких больных, а атрезию кишечника – крайне редко. У sibсов на рис. 2.61 с одной и той же транслокацией кроме некоторых общих черт обнаруживаются и явные фенотипические различия. Можно предположить, что эта изменчивость зависит частично от того, что у разных индивидов одна и та же аномальная хромосома проявляет свои эффекты на разном генетическом фоне.

Наиболее неожиданный факт, касающийся фенотипа хромосомных aberrаций, состоит в том, что при трисомиях вообще обнаруживаются аномалии. Ведь носители этих aberrаций имеют полный набор генетического материала, и ни один из генов не утерян и не поврежден! По данным исследований гетерозигот по аутосомным



**Рис. 2.62.** Кариотип мальчика, показанного на рис. 2.61. Стандартное окрашивание.



**Рис. 2.63.** Кариотип матери двух детей, показанных на рис. 2.61, с реципрокной транслокацией, в которой участвуют хромосомы 7 и 10. Эти две хромосомы указаны *стрелками* (G-окрашивание) [504].

рецессивным болезням (разд. 4.2.2.8) известно, что снижение активности ферментов вдвое, как правило, еще не нарушает их функции. В связи с этим трудно понять, почему увеличение количества генных продуктов в 1,5 раза, наблюдающееся при трисомиях, должно приводить к таким большим фенотипическим различиям. Более детально эти проблемы будут обсуждаться в разд. 4.7.4. Здесь только скажем, что симптомы, общие для всех аутосомных синдромов, не зависят от того, какая хромосома вовлечена в перестройку. Можно, впрочем, отметить, что пораженными оказываются чаще всего те системы органов, для которых характерен длинный и сложный путь эмбрионального развития, и, следовательно, для нормального обеспечения этого процесса необходимо много разных генов. Однако такое объяснение носит слишком общий характер, и к тому же все необходимые гены имеются в наличии.

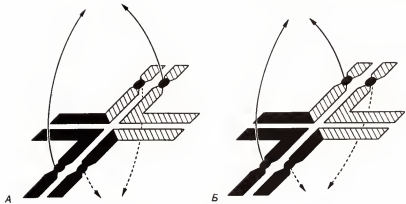
Чем же можно объяснить нарушения, вызываемые хромосомными aberrациями? Ответ таков: эти синдромы обусловлены, вероятно, не наличием избыточной активности или дефекта отдельных генов, а главным образом нарушениями регуляции активности генов во время эмбрионального развития. Следовательно, анализ аутосомных aberrаций может оказаться полезным для понимания механизмов генной регуляции у человека. В случае такой специальной проблемы, как развитие половых признаков, изучение больных с численными и структурными aberrациями половых хромосом оказалось весьма поучительным. Однако до подробного обсуждения aberrаций этого типа полезно сделать несколько замечаний относительно сегрегации и пренатальной селекции несбалансированных транслокаций, а также относительно возможных клинических признаков «сбалансированных» транслокаций. Кроме теоретического интереса эти вопросы важны с точки зрения генетического консультирования — для оценки повторного риска.

#### 2.2.2.2. Сегрегация и пренатальная селекция транслокаций: методологические аспекты

Проблема сегрегации и пренатальной селекции транслокаций служила предметом многих исследований, но результаты их оказались противоречивыми и в конечном счете не позволили дать общую картину. Совсем недавно многие из этих проблем были проанализированы и решены Шефером [501a]. Опишем вкратце ход его рассуждений и результаты анализа.

Транслокации относительно редки. Поэтому ни одна исследовательская группа не может накопить достаточно большой материал для окончательного вывода. Следовательно, необходимо суммировать данные разных авторов, опубликованные в литературе. Однако такие данные содержат много ошибок. Некоторые из них будут обсуждаться позже (разд. 3.3.4 и приложение 3). Например, все сибсы с аномальной хромосомой, как правило, учитываются только в том случае, если по крайней мере один из них поражен. Важно также и то, откуда отобраны сибства с одним пораженным: из общей популяции или только из небольшой ее части? Эти проблемы могут быть решены довольно просто, если мы имеем дело с наследственной болезнью, поскольку в этом случае семьи учитываются по одному пробанду, пораженному данной болезнью. С транслокациями дело обстоит сложнее, так как семьи могут быть учтены, например, по поводу повторных выкидышей или по пробанду, у которого обнаружена несбалансированная транслокация при рождении, или в результате пренатальной диагностики. Иногда семья оказывается в поле зрения исследователя по причине того, что в ходе популяционного исследования в ней обнаруживают носителя сбалансированной транслокации. Учитывая, что во многих публикациях отсутствует необходимая информация, полностью скорректировать все ошибки, конечно, невозможно, однако корректирующие процедуры Шефера являются на сегодняшний день оптимальными (см. приложение 3).

*Данные, использованные для этого анализа.* Исследование основано на результатах изучения 1050 семей с сегрегирующими транслокациями. Охвачено 2109 пар родителей и 4745 потомков. Кроме того, были суммированы данные о 556 случаях клинических проявлений у носителей сбалансированных транслокаций, о 814 пренатальных диагностических исследованиях и о 130 000 индивидов, обследованных в ходе выполнения различных скринирующих программ. Это статистическое исследование позволило де-



**Рис. 2.64.** Схематическое изображение транслокационного квадрилента, предполагающего альтернативное (А), или совместное-1 (Б) расхождение. Центрические сегменты длиннее, чем

транслоцированные. Альтернативное расхождение дает нормальные и сбалансированные зиготы, при совместном расхождении образуются два типа несбалансированных зигот.

тализировать оценки повторного риска и фенотипические проявления у носителей сбалансированных и несбалансированных транслокаций. Для правильной интерпретации этих результатов необходимо наглядно представить себе последствия транслокаций во время мейоза.

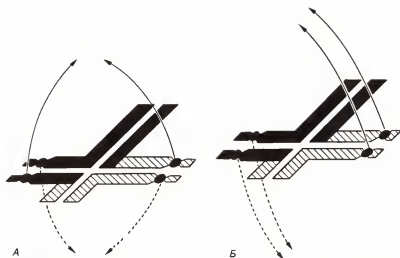
*Сегрегация транслокаций в первом мейотическом делении.* В первом мейотическом делении хромосомы конъюгируют. Это относится и к транслоцированным хромосомным сегментам: они конъюгируют с гомологичными участками своих «партнеров», что приводит к образованию комплекса из *четырёх* хромосом при реципрокной транслокации и комплекса из *трех* хромосом при робертсоновской перестройке. Как и в случае нормального мейоза, нити веретена фиксированы в центромерах и гомологичные хромосомы движутся к противоположным полюсам. В результате анафазного расхождения с равными вероятностями формируются четыре различных продукта деления (рис. 2.64):

1 и 2. Две нормальные хромосомы  $A_1$ ,  $B_1$  попадают в одну гаплоидную клетку (гамету), а две транслоцированные хромосомы  $A_2$ ,  $B_2$  – в другую гамету (альтернативное расхождение).

3 и 4. Одна нормальная и одна транслоцированная хромосомы попадают в одну гамету (совместное 1-расхождение). В данном случае имеются две возможности:  $A_1B_2$  или  $A_2B_1$ . Каждая из этих двух комбинаций имеет вероятность 0,25.

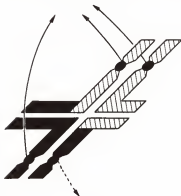
Вариант  $A_1B_1$  кариотипически нормален,

$A_2B_2$  – сбалансирован по транслокации, поскольку две хромосомы  $A_2$  и  $B_2$  только обменялись сегментами. Варианты  $A_1B_2$  и  $A_2B_1$  не сбалансированы по транслокации вследствие частичной трисомии. Кроме того, в результате этой хромосомной aberrации могут наблюдаться и другие, аномальные типы сегрегации. Например, гомологичные центромеры могут попасть иногда в одну гамету (совместное 2-расхождение; рис. 2.65), или в одну гамету попадают три центромеры, а в другую – только одна центромера (расхождение 3:1; рис. 2.66). Пренебрегая этими аномальными ситуациями, мы приходим к выводу, что среди потомков индивида со сбалансированной реципрокной транслокацией мы должны ожидать 50% носителей несбалансированной транслокации и, следовательно, с фенотипическими нарушениями; 25% будут иметь сбалансированную транслокацию и фенотипически нормальными; и 25% окажутся генотипически и фенотипически нормальными. Экспериментальные данные, однако, эти теоретически ожидаемые пропорции не подтверждают, причем количество детей с несбалансированными кариотипами оказывается намного меньше. Это может быть следствием многих причин: дополнительных аномалий в первом мейотическом делении, селекции в гаметогенезе против половых клеток с аномальным кариотипом, предпочтительного участия в оплодотворении нормальных и/или сбалансированных по транслокации половых клеток, а также селекции против анеуплоидных гамет на различных стадиях эмбрионального развития. Результаты статистического анализа могут дать ряд аргументов



**Рис. 2.65.** Обе хромосомы, участвующие в транслокации – акроцентрические. Одно из спаривающихся плеч, которое не имеет центромеры, намного длиннее плеча с центромерой. В данном случае гомологичные центромеры могут (редко)

попасть в одну и ту же дочернюю клетку (совместное 2-расхождение). Этот тип расхождения возможен также, если одна из двух хромосом является хромосомой 9.



**Рис. 2.66.** Сегрегация 3:1 с образованием трисомии (или моносомии). Длина спаренных сегментов между центромерами достаточна для образования хиазм; хиазмы на фигуре справа не могут терминализироваться должным образом.

в пользу реального значения некоторых из этих механизмов.

*Ожидаемые пропорции несбалансированных зигот.* Если использовать указанные в приложении 3 поправки на ошибки выборки, то средний риск рождения потомков с несбалансированной транслокацией можно оценить в 7% для матерей, носителей сбалансированной транслокации, и в 3% для носителей-отцов. Эти значения риска были получены для *всех* носителей сбалансированной транслокации. Для носителей из семей, в которых несбалансированные по транслокации потомки были зарегистрированы уже ранее, риск для sibсов суммарно оказывается выше (14% от всех новорожденных для матерей и 8% для отцов); риск рождения несбалансированных по транслокации сыновей у отцов, носителей сбалансированной транслокации, особенно низок (5%). Если носителями являются матери, то среди всех несбалансированных по транслокации потомков 66% относится к типу «совместное-1», 3% – к типу «совместное-2» и 31% – к типу «3:1». Если носителями являются отцы, то 90% «несбалансированных» потомков будет типа «совместное-1», 3% – типа «совместное-2» и 8% – типа «3:1».

Для носителей транслокаций, выявленных по данным пренатальной диагностики, оценки риска таковы: 11,7% несбалансированных потомков в

случае носителей-матерей и 12,1% для носителей-отцов. Низкая *общая* оценка (7% для носителей-матерей; 3% для отцов) связана с тем, что только около половины всех транслокаций могут проявиться в виде пороков развития при рождении, остальные приводят к внутриутробной гибели.

Для робертсоновских транслокаций с участием хромосомы 21 риск появления «несбалансированного» потомства составляет 13%, если носителем является мать, и 3%, если носитель – отец. С другой стороны у носителей транслокации DqDq риск рождения «несбалансированного» потомства практически нулевой. То же, по-видимому, справедливо и для транслокации Dq22q. Для генетического консультирования имеющиеся оценки риска в случае робертсоновских транслокаций достаточно надежны, но для реципрокных транслокаций они довольно грубые, поскольку получены при обобщенном подсчете многих типов транслокаций, в которых участвует много разных хромосом; можно ввести дополнительные поправки. Например, для носителя сбалансированной транслокации, который обследуется в связи с наличием у пробанда несбалансированной транслокации, риск выше, чем в случае, когда пробанд сам является носителем сбалансированной перестройки. Кроме того, должны приниматься во внимание специальные параметры, например такие, как длина хромосомы, участвующей в транслокации, и особенно размер трисомного (или моносомного) сегмента. В первом приближении можно считать, что чем больше этот сегмент, тем сильнее действует пренатальный отбор против анеуплоидной половой клетки или зиготы. Накапливается все больше данных в пользу предположения о том, что риск выше, если общая длина двух хромосомных сегментов, участвующих в дисбалансе, оказывается меньше 2% общей длины генома. Когда общая длина вовлеченных в транслокацию участков больше, вероятность ранней гибели «несбалансированных» зигот также увеличивается. Частичные моносомии имеют клинически более тяжелые последствия, чем частичные трисомии. В идеальном случае оценка риска должна быть основана на эмпирических данных об идентичной транслокации в той же самой семье [355]. Однако в большинстве случаев такие данные невозможно получить, так как существует слишком много различных транслокаций. Буэ [310], располагающий самым большим материалом по данной проблеме, указывает на то, что для любой робертсоновской или реципрокной транслокации характер выборки определяет величину повторного риска. Так, если сбалансированная транслокация обнаружена в ходе цитогенетического обследования по поводу повторных выкидышей, риск обнаружения плодов с

несбалансированными транслокациями невелик (2%) (табл. 2.8). Наоборот, если выборка формировалась по аномальным детям, то риск рождения детей с несбалансированными перестройками составляет почти 20%. Такой анализ способствует пониманию особенностей сегрегации транслокаций в первом мейотическом делении у человека. В общем, сегрегация, по-видимому, происходит вполне правильно: гомологичные центромеры действительно мигрируют к противоположным полюсам, что ведет либо к «альтернативной», либо к «совместной-1» сегрегации. В виде исключения иногда может происходить сегрегация по типу «совместная-2» или «3:1»; последняя происходит в основном в тех случаях, когда маленькая хромосома остается неспаренной. У мужчин это часто ведет к нарушениям мейоза (рис. 2.66). Отбор против несбалансированных гамет происходит у мужчин, но не у женщин. Отбор против несбалансированных зигот зависит от типа и масштабов хромосомного дисбаланса; очень крупный дисбаланс будет приводить к ранней и нераспознаваемой гибели эмбрионов. Умеренный дисбаланс приведет к диагностируемому спонтанному аборт. Частота выкидышей увеличивается особенно в том случае, если носителем является мать. Это может быть связано с отсутствием у женщин гаметического отбора.

В прошлом предполагалось, что наличие в

**Таблица 2.8.** Выявление транслокаций [310]

Вид хромосомной аберрации	Среди носителей несбалансированных аномалий		Среди спонтанных абортусов	
	Количество обследованных	Несбалансированные аберрации	Количество обследованных	Несбалансированные аберрации
Робертсоновские транслокации				
DqDq	7	0	30	0
DqGq	25	3	7	0
GqGq	4	1	0	0
Региональные транслокации	46	10	43	2
Инверсии	3	3	12	0
Всего	85	16	92	2

кариотипе транслокации может повышать вероятность нарушения сегрегации других хромосом. Например, регулярная трисомия 21, согласно данным некоторых авторов, чаще наблюдалась в потомстве матерей, которые были носителями сбалансированной транслокации. Однако тщательный анализ конкретных материалов не подтвердил это предположение.

*Сегрегация кариотипически нормальных и сбалансированных зигот.* Как уже указывалось, альтернативная сегрегация теоретически должна вести к появлению кариотипически нормальных и «сбалансированных» зигот в равных отношениях (50:50). На практике в большинстве сообщений приводятся данные о *небольшом* избытке «сбалансированных» зигот. Анализ Шефера [501a] показал, что этот факт отражает биологическую реальность. Подобное явление наблюдается у сыновей, отцы которых – носители сбалансированной транслокации, и особенно явно у сыновей, отцы которых несут транслокацию 13q14.

*Фенотипические отклонения у носителей сбалансированных транслокаций.* Носители сбалансированных транслокаций имеют полный набор генетического материала и, следовательно, должны быть фенотипически нормальными. Как правило, это подтверждается на практике. Однако во многих сообщениях приводятся данные о небольшом повышении частоты пороков развития, умственной отсталости и малых врожденных дефектов. Анализ этих данных показал, что

множественные пороки развития и умственная отсталость редко встречаются среди носителей сбалансированных транслокаций, но чаще, чем среди кариотипически нормальных людей (табл. 2.9). Как правило, такие клинические находки встречаются при *спорадических* или семейных транслокациях Dq21q; в этих семьях можно предполагать наличие необнаруженных мозаиков. При спорадических транслокациях появление аномального фенотипа можно объяснить разрывом в гене или его изъятием из функционально значимого окружения (эффект положения). Большинство носителей семейных транслокаций клинически здоровы. Отбор против несбалансированных зигот ведет к увеличению частоты выкидышей; среди супружеских пар с привычным невынашиванием частота носителей транслокаций выше. Бесплодие обычно наблюдается у носителей-мужчин; а у женщин – при X-автосомных транслокациях. Однако эти данные не должны затмевать тот факт, что подавляющее большинство носителей семейных и спорадических транслокаций имеют нормальный фенотип.

Приведенные данные о транслокациях у человека имеют значение для оценки частоты мутаций, а также для оценки приспособленности, силы отбора и для теории эволюции.

**Таблица 2.9.** Частота (на 1000 индивидов) сбалансированных транслокаций в различных группах [501a]

Группа	Реци- прок- ные трансло- кации	DqDq	DqGq	GqGq	n (обсле- довано)
Новорожденные	0,838	0,614	0,182	0,014	71 603
Взрослые	0,639	0,930	0	0,058	17 202
Абортусы	1,455	0,727	0,242	0	4 124
Мертворожденные и недоношенные	0,734	0,734	1,468	0	1 362
Множественные пороки развития	3,305	0,991	0,661	0,165	6 052
Умственно отсталые	2,283	0,351	0,176	0	17 083
Антисоциальное поведение	1,204	0,747	0,267	0	3 463
Психически больные (пассивные)		2,600			4 014
Бесплодие (мужчины)	2,061	5,247	0,562	0,187	5 336
Бесплодие (женщины)	2,309	0,770	0,770	0	1 299
Пациенты с привычными абортami:					
(мужчины)	7,543	2,382	0,794	0	2 519
(женщины)	17,718	6,024	1,417	0	2 822



### 2.2.3. Половые хромосомы

#### 2.2.3.1. Первые наблюдения

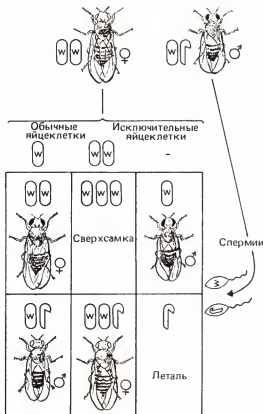
**Нерасхождение половых хромосом и определение пола у дрозофилы.** В 1910 г. Морган [448] впервые детально описал X-сцепленное наследование и X-Y-тип хромосомного определения пола у *Drosophila melanogaster*. В его опытах наблюдалось несколько исключений, не согласующихся с предположением о сцеплении с X-хромосомой. Бриджес объяснил эти исключения, предположив возможность особых аномалий в механизме мейоза. В 1916 г. он показал [311], что в мейозе у дрозофилы действительно может иметь место нерасхождение половых хромосом.

Дрозофила имеет четыре пары хромосом: три аутосомы и две половые хромосомы. Так же как и у человека, самки имеют набор XX, а самцы XY, т.е. все самцы по генам, сцепленным с X-хромосомой, являются гемизиготными (полузиготными). Стало быть, каждая нормальная мужская гамета будет нести либо X-, либо Y-хромосому, а все яйцеклетки – X-хромосому. В скрещиваниях самок, гомозиготных по X-сцепленному признаку *white* (белоглазые), с самцами дикого типа (красноглазые) все потомки-самцы, будучи гемизиготными, должны иметь белые глаза, как и их гомозиготные матери. Все дочери должны быть гетерозиготными и иметь нормальные красные глаза. Как правило, эти предположения оправдывались, однако в очень редких случаях самцы имели нормальные красные глаза, а самки – белые. Бриджес показал, что это связано с нерасхождением материнских X-хромосом, что приводит к образованию яйцеклеток либо с двумя X-хромосомами, либо вообще без них (рис. 2.67). После оплодотворения спермием самца дикого типа возможно образование зигот четырех типов: XXX; XXU; XO; YO. Зиготы YO не обнаружены, очевидно, в силу их нежизнеспособности. Остальные три типа зигот действительно обнаруживаются. Существование таких мук позволяет делать вывод относительно механизма определения пола:

- а) XXX } фенотип самки
- б) XXU } фенотип самки
- в) XO фенотип самца (стерильный)

Следовательно, фенотипический пол у плодовой мушки зависит от числа X-хромосом. Одна X-хромосома определяет пол самца, большее их число – пол самки. Y-хромосома также влияет на определение пола, поскольку самцы XO стерильны.

**Генотип XO у мыши.** X-сцепленная мутация *scurfy* (*sf*) (шерсть животных как бы покрыта



**Рис. 2.67.** Нерасхождение X-хромосом у *Drosophila*, скрещивание самок *white* с самцами дикого типа. (Sinnott-Dunn-Dobzhansky, Principles of Genetics, 1958.)

пылью) впервые была выявлена как спонтанная. Гемизиготные самцы стерильны, поэтому линию можно поддерживать только путем скрещивания гетерозигот ( $X^{sf}/X^{+}$ ) с нормальными самцами ( $X^{+}/Y$ ). Соотношение мутантных и нормальных самцов в таком скрещивании должно быть 1:1, а все самки в потомстве должны быть нормальными. Однако изредка появляются исключительные самки. Подобно самцам-гемизиготам, они стерильны. Яичники таких самок пересаживали нормальным самкам, которых затем скрещивали с самцами дикого типа. В потомстве от такого скрещивания все самцы были *sf*, а все самки – нормальные. Фенотипически нормальные самки разделялись, однако, на две группы: одни из них передавали, а другие не передавали мутацию *scurfy* своим потомкам. Дальнейший анализ показал, что эти самки различаются генетически:

$X^+/O$  и  $X^+/X^{sf}$ ; самки с первым кариотипом не передавали  $sf$  в отличие от самок со вторым кариотипом. Этот эксперимент показывает, что особи  $XO$  у мыши являются фертильными самками. Следовательно, у мыши за фенотипический пол ответственна не  $X$ -хромосома, а  $Y$ . Впоследствии  $XO$ -кариотип у мыши обнаруживали довольно часто. В большинстве случаев это состояние возникает не вследствие мейотического нерасхождения, а в результате потери хромосомы после оплодотворения. При исследовании мутационного процесса утрата хромосомы стала важным инструментом для учета мутагенной активности (разд. 5.2). Позже у мыши был обнаружен и кариотип  $XXY$ . В отличие от дрозофилы, у которой особи  $XXY$  являются самками, у мыши особи  $XXY$  имеют фенотип самцов.

*Анеуплоидия по X-хромосоме у человека:  $XXY$ ;  $XO$ ;  $XXX$ .* Анеуплоидия по  $X$ -хромосоме была первой из выявленных у человека хромосомных аномалий. Когда Джекобс и Стронг (1959) [395] обследовали 42-лет-

него мужчину с типичными признаками синдрома Клайнфельтера (рис. 2.68; 2.69) (гинекомастия, маленькие тестикулы, гиалиноз тестикулярной ткани), они обнаружили  $X$ -хроматин в клетках эпителия ротовой полости и «барабанные палочки» в нейтрофильных лейкоцитах. При исследовании хромосом в клетках костного мозга была выявлена добавочная субметацентрическая хромосома «в группе средних по размеру». Авторы предположили, что кариотип больного —  $XXY$ . Однако «не может быть исключена возможность... что добавочная хромосома представляет собой аутосому, несущую феминизирующие гены». Оба родителя больного имели нормальный кариотип с 46 хромосомами, следовательно, нерасхождение произошло у одного из них в мейозе. Вскоре после этого кариотип  $XXY$  был подтвержден при многих других случаях синдрома Клайнфельтера.

Высокий рост

Отсутствие залысин на лбу

Плохой рост бороды

Тенденция к выпадению волос на груди

Женский тип оволосения лобка

Моча:

гонадотропины ↑

17 кетостероиды ↓



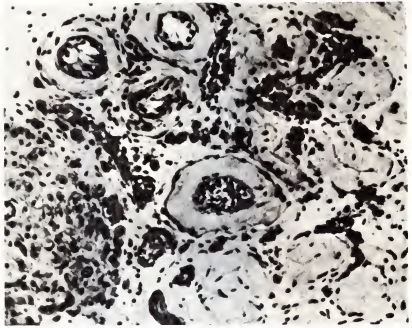
Евнухоидный и слегка феминизированный габитус

Слегка снижен IQ

Гинекомастия  
Остеопороз

Атрофия тестикул  
(тубулярный склероз;  
гиперплазия клеток Лейдига)

**Рис. 2.68.** Основные клинические симптомы синдрома Клайнфельтера.



**Рис. 2.69.** Гиалинизированная тестикулярная ткань при синдроме Клайнфельтера. Нормальные семенные трубочки отсутствуют и замещены гиалинизированной тканью.

В то же самое время Форд и сотр. (1959) [352] выявили кариотип XO. В этом случае 14-летняя девочка имела клинические признаки синдрома Тернера (рис. 2.70) при отсутствии в клетках эпителия слизистой оболочки рта X-хроматина. Модальное число хромосом в клетках костного мозга было 45, обнаружено только 15 «метацентрических хромосом средней длины», как у нормальных мужчин. Это строго соответствовало кариотипу XO. Сравнивая эти результаты с тем, что было известно для дрозофилы (рис. 2.67), авторы пришли к выводу, что в противоположность плодовой мушке тип XO у человека приводит к развитию «агонального» индивида с женским фенотипом. Упомянув о кариотипе XXX у дрозофилы, они отметили, что у человека он еще не описан.

Вскоре, однако, появилось сообщение о 35-летней женщине с плохо развитыми наружными половыми признаками и вто-

ричной аменореей. Ее хромосомный набор состоял из 47 хромосом, причем добавочной была явно X-хромосома: 47, XX, + X. В этом случае были исследованы и костный мозг, и фибробласты. Во многих клетках слизистой оболочки рта и в некоторых нейтрофилах удалось обнаружить два тельца X-хроматина. Таким образом,

1) в противоположность дрозофиле фенотипический пол у человека определяется наличием или отсутствием Y-хромосомы, а не числом X-хромосом. В этом отношении человек подобен мышь, но тип XO у мыши соответствует фертильной самке, в то время как у человека — это женщина с нефункционирующими яичниками;

2) число телец X-хроматина на одно меньше, чем число X-хромосом.

Эти два факта стали фундаментом наших знаний и гипотез относительно детерминации пола и генетической активности X-хромосом.

Низкая граница роста волос  
на затылке

Щитовидная грудная клетка  
Широко расставленные соски

Укорочение метакарпальных  
костей IV

Гипоплазия ногтей

Многочисленные пигментные  
пятна

Моча:

гонадотропины ↑

17 кетостероиды ↓

Эстрогены ↓



Низкий рост

Лицо "сфинкса"

"Рыбий" рот

Крыловидная складка шеи

Коарктация аорты

Слабое развитие молочных  
желез

Вальгусное искривление локтя

Рудиментарные яичники

Фиброзный тяж на месте гонад

Первичная аменорея

Дорсальная метакарпальная  
и метатарсальная лимфедема  
(при рождении)

**Рис. 2.70.** Основные клинические симптомы синдрома Тернера.

### 2.2.3.2. X-хромосомные анеуплоидии у человека: современное состояние проблемы

Различие между X-хромосомными и ауто-сомными анеуплоидиями. Вскоре после первых открытий анеуплоидии по половым хромосомам последовали и другие. Если рассматривать все эти случаи в целом как группу, то обнаруживаются заметные отличия от аутосомных анеуплоидий, о которых шла речь ранее:

1) умственное развитие в среднем хотя и ниже нормы, но аномалии развития мозга выражены не столь отчетливо, как при аномалиях аутосом. Многие пробанды имеют нормальное умственное развитие, а некоторые — даже выше среднего (разд. 8.2.2.2);

2) фенотипические нарушения в большей степени затрагивают развитие половых органов и гормонозависимый рост. Наблюдаются и другие пороки развития,

особенно при синдроме Тернера, но встречаются они реже и по масштабам менее тяжелые.

В конечном счете X-хромосомная анеуплоидия не нарушает эмбриональное развитие в такой степени, как аутосомные анеуплоидии. Объяснение, по-видимому, состоит в том, что в норме женщина имеет две, а мужчина только одну X-хромосому, в связи с чем в эволюции сформировался специальный мощный механизм компенсации различий в дозе генов, сцепленных с X-хромосомой. Этот же механизм оказался фактором, благоприятствующим носителям X-хромосомных анеуплоидий.

*Клиническая классификация X-хромосомных анеуплоидий: мозаики.* Наиболее важные численные и структурные аномалии X-хромосом представлены в табл. 2.10. В общем, число добавочных X-хромосом увеличивает степень умственной отсталости. Число телец X-хроматина всегда на одно меньше,

чем число X-хромосом. В табл. 2.10 описаны также наиболее частые типы мозаицизма, однако обмены с участием X-хромосомы не указаны. В последнем случае приложимы те же правила, что и для аутосомных транслокаций, в частности, в отдельных семьях наблюдается значительная вариабельность фенотипических проявлений.

Некоторые из X-аутосомных обменов важны для разработки теоретических концепций относительно инактивации X-хромосомы.

Крупные пороки развития обнаруживаются чаще всего при гонадальном дисгенезе, который является наиболее гетерогенным в клиническом и цитогенетическом отношении. Некоторые авторы, исходя из клинических принципов, предполагают возможность подразделения этого синдрома на варианты [88, 477]. Наиболее известная классификация основана на противопоставлении, с одной стороны, простого гонадального агенеза без добавочных симптомов, а с другой — синдрома Тернера с признаками, представленными на рис. 2.70. Однако цитогенетические данные слабо или вовсе не коррелируют с таким подразделением на две группы.

Анеуплоидия XO встречается много реже, чем варианты XXУ и XXX. Ожидаемые частоты различных типов зигот основаны на закономерностях распределения хромосом по гаметам после нерасхождения в первом или втором делениях мейоза у лиц обоего пола (рис. 2.71). При этом делается допущение, что вероятность оплодотворения любой яйцеклетки спермием X или Y составляет 1/2 и что все спермии (включая и анеуплоидные) участвуют в оплодотворении яйцеклеток. Эти события можно обозначить следующим образом:

NDF1	нерасхождение в первом мейотическом делении у женщин
NDF2	нерасхождение во втором мейотическом делении у женщин
NDM1	нерасхождение в первом мейотическом делении у мужчин
NDM2X	нерасхождение, затрагивающее X-хромосому во втором мейотическом делении у мужчин
NDM2Y	нерасхождение, затрагивающее Y-хромосому во втором мейотическом делении у мужчин

**Таблица 2.10.** Численные и структурные X-хромосомные анеуплоидии у человека

Кариотип	Фенотип	Приблизительная частота
XXY	Синдром Клайнфельтера	1/700 мужчин
XXXУ	Вариант синдрома Клайнфельтера	~ 1/2500 мужчин
XXXXУ	Глубокая умственная отсталость; сильное недоразвитие половых органов; радиоульнарный синостоз	Очень редкий
XXX	Иногда легкая олигофрения, непостоянные нарушения функции гонад	1/1000 женщин
XXXX XXXXX	Физически нормальные; тяжелая умственная отсталость	Редкий
Мозаики XXY/XY и XXY/XX	Сходен с синдромом Клайнфельтера, иногда с более сглаженными симптомами	~ 5-15% от больных с синдромом Клайнфельтера
Мозаики XXX/XX	Сходен с XXX	Редкий
XO	Синдром Тернера	~ 1/2500 женщин при рождении
Мозаики XO/XX и XO/XXX	(Тернер); очень разные степени проявления	Не редкий
Различные структурные аномалии X-хромосомы XYУ	Высокий рост; иногда аномалии поведения	Не редки
XXYY	Высокий рост; в остальном сходен с синдромом Клайнфельтера	1/800 мужчин
		Редкий

Нерасхождение в:		♀		♂	
1-м мейотическом делении	Продукты 1-го мейотического деления	XX	0	XY	0
	Продукты 2-го мейотического деления (зародышевые клетки)	XX XX	0 0	XY XY	0 0
Нерасхождение в:		X		Y	
2-м мейотическом делении	Продукты 1-го мейотического деления	X	X	X	Y
	Продукты 2-го мейотического деления (зародышевые клетки)	XX 0	X X	XX 0	Y Y
				X X	YY 0

**Рис. 2.71.** Генотип половых клеток при нерасхождении X- и Y-хромосом в первом и втором мейотическом делении. Подробности см. в тексте.

Ожидаемые относительные частоты (вероятности, P) различных типов зигот:

$$XXY: \frac{1}{3}P_{NDF1} + \frac{1}{7}P_{NDF2} + \frac{1}{2}P_{NDM1}$$

$$XXX: \frac{1}{3}P_{NDF1} + \frac{1}{7}P_{NDF2} + \frac{1}{4}P_{NDM2X}$$

$$XO: \frac{1}{3}P_{NDF1} + \frac{1}{7}P_{NDF2} + \frac{1}{2}P_{NDM1} + \frac{1}{4}P_{NDM2X} + \frac{1}{4}P_{NDM2Y}$$

$$XYY: \frac{1}{4}P_{NDM2Y}$$

$$XX: \frac{2}{7}P_{NDF2} + \frac{1}{2}P_{NDM2Y}$$

$$XY: \frac{2}{7}P_{NDF2} + \frac{1}{2}P_{NDM2X}$$

Следовательно, при отсутствии влияния других факторов и при условии равных вероятностей для NDM1 и NDM2X зиготы XXY должны встречаться несколько чаще, чем зиготы XXX. Существуют некоторые доказательства того, что нерасхождение аутосом происходит чаще в первом, чем во втором мейотическом делении (разд. 5.1.2.3).

Теоретически зиготы XO должны встречаться чаще, чем зиготы других типов. Однако эмпирические данные не соответствуют этому, синдром Тернера встречается много реже, чем зиготы XXX и XXY. Это указывает на наличие сильного отбора против гамет, не содержащих половой хромосомы X, и/или на наличие сильного внутриутробного отбора против зигот XO.

Последнее предположение подтверждается тем, что среди спонтанно абортированных зародышей тип XO встречается относительно часто. Есть и другие доказательства: риск нерасхождения обычно увеличивается с возрастом матери (разд. 5.1.2.2). Для анеуплоидий типа XXX и XXY в отличие от типа XO эта закономерность выявляется вполне четко. В настоящее время допускается, что выжившие зиготы XO являются результатом не мейотического, а митотического нерасхождения или утраты хромосом на ранних стадиях дробления. Об этом же свидетельствуют данные, что в группе больных с синдромом Тернера мозаики встречаются относительно чаще, чем в группах XXX- и XXY-анеусомиков. С другой стороны, зиготы XYY могут возникать только вследствие нерасхождения во втором мейотическом делении у мужчин. Однако они встречаются почти так же часто, как и зиготы XXY. Следовательно, вероятность нерасхождения по Y-хромосоме,  $P_{NDM2Y}$ , явно много выше, чем отдельные вероятности разных типов нерасхождения по X-хромосоме. Наблюдались мозаики всех типов. Механизмы возникновения мозаиков обсуждаются в разд. 5.1.6.

**Интерсексы.** На основании клинических данных различают три типа интерсексов: 1) истинный гермафродитизм: присутст-

вуют половые клетки обоих полов;

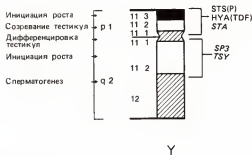
2) мужской псевдогермафродитизм: имеются только тестикулы;

3) женский псевдогермафродитизм: имеются только яичники.

К сожалению, эта простая классификация не совпадает с цитогенетическими данными, поскольку в каждой группе встречаются хромосомные варианты, включая и такие случаи, как, например, 46,XX у мужчин. Многие интерсексы являются мозаиками, содержащими клетки с различным набором половых хромосом в разных комбинациях. Например, фенотип мозаик 45,XX/46,XY может проявиться в виде овариального дисгенеза, гонадального дисгенеза, с мужским псевдогермафродитизмом или в форме «смешанного гонадального дисгенеза», когда одна гонада представлена фиброзным тяжем, а другая – диспластическим тестикулом. Некоторые истинные гермафродиты имеют кариотип 46,XX/46,XY. Мозаицизм типа XX/XY может возникать как следствие любого из девяти различных механизмов, таких, как оплодотворение ооцита двумя различными спермиями, слияние двух оплодотворенных яйцеклеток, митотическая ошибка во время первого дробления или внутриутробный обмен стволовыми кроветворными клетками между разнополыми дизиготными близнецами (разд. 3.8.3).

Первичная функция полоопределяющих факторов состоит в индукции гонад. Гонады в свою очередь детерминируют развитие других половых органов и вторичные половые признаки. Нарушения индукции гонад могут быть вызваны либо аномалиями набора половых хромосом, либо другими факторами, не имеющими прямого отношения к половым хромосомам. В последнем случае интерсексы могут иметь нормальный набор хромосом как XX, так и XY. Сбалансированные структурные перестройки с участием X-хромосомы часто ведут к бесплодию у обоих полов [427].

*Y-хромосома как фактор, определяющий мужской пол.* Развитие тестикул детерминруется Y-хромосомой. Бюлер [315], обобщив данные многочисленных литературных сообщений о больных с анома-



**Рис. 2.72.** Слева: функции, аномалии которых отмечены у больных с абберациями Y-хромосомы [315]. Справа: локализация Y-специфических зондов ДНК (из каталога McKusick 1985).

лиями половой дифференцировки и структурными аномалиями Y-хромосомы, попытался локализовать различные функции в эухроматическом районе Y-хромосомы человека (рис. 2.72). На этом рисунке отсутствует, однако, информация, полученная на основе использования специфических ДНК-зондов. Различные типы аномалий X- и Y-хромосом весьма информативны относительно механизмов полового развития человека. Однако полезные сведения по этой проблеме можно получить также и при изучении метаболических аномалий с простым типом наследования, из опытов по получению химер у животных, а также из исследований H-Y-антигена. Кроме того, для полного понимания процесса половой дифференцировки необходимы знания о генетическом контроле регуляторных функций гормонов. В связи с этим особое значение приобретает концепция рецепторных болезней. Обсуждение этих вопросов будет представлено в разд. 4.7.5, здесь же мы обсудим один специальный вопрос – дозовую компенсацию.

### 2.2.3.3. Дозовая компенсация X-хромосомы млекопитающих [357]

*Природа X-хроматина.* Когда Барр и Бертрам (1949) [298] открыли X-хроматин, относительно его природы были высказаны разные гипотезы. По аналогии с дрозофилой вначале предполагалось, что X-хроматин состоит из гетерохроматиновых райо-

нов обоих X-хромосом. Это как будто подтверждалось наблюдением, что X-хроматин состоит из двух частей. Однако Оно и соавт. (1959) [463; 464] показали, что X-хроматин формируется только одной X-хромосомой. В делющихся диплоидных клетках регенерирующей печени крысы на стадии профазы X-хроматиновое тельце выглядело как одна большая хромосома, сильно конденсированная во всей своей длине, а не как объединение гетерохроматиновых районов двух хромосом. В клетках мужчин такая конденсированная хромосома отсутствовала. Был сделан вывод, что каждое тельце X-хроматина представляет собой единственную гетеропикнотическую X-хромосому. Половой диморфизм наблюдается потому, что единственная X-хромосома у мужчины, как и одна из двух X-хромосом у женщины, остается эухроматической. Этот вывод был подтвержден у других млекопитающих, а Тэйлор (1960) [525] показал с помощью радиоавтографии с меченым  $^3\text{H}$ -тимидином, что женская гетеропикнотическая X-хромосома в соматических клетках китайского хомячка реплицируется только в конце S-фазы. Результаты Тэйлора были подтверждены исследованиями на многих других млекопитающих. Гетерохроматинизация X-хромосомы происходит на ранних стадиях эмбрионального развития. Дробящаяся зигота млекопитающих не имеет X-хроматина. Время его первого появления у различных видов варьирует от бластоцисты до стадии ранней первичной полоски, т.е. от 50-клеточной стадии (у свиньи) до стадии в несколько сотен клеток (у человека) и от предимплантационного до постимплантационного периода. В трофобласте человека X-хроматин появляется на 12-й день развития, а в собственно эмбрионе – на 16-й день. X-хроматин формируется одновременно во всех клетках эмбриона. Данные об анеуплоидных индивидах, имеющих более двух X-хромосом, свидетельствуют о том, что только одна X-хромосома остается в эухроматическом состоянии, тогда как все остальные гетерохроматинизированы.

*Инактивация X-хромосомы как механизм дозовой компенсации: гипотеза Лайон. В*

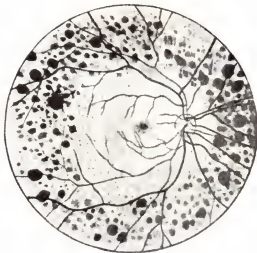
1961 г. Лайон высказала предположение, что в разных клетках одного организма гетеропикнотическая X-хромосома может быть либо отцовского, либо материнского происхождения и что эта хромосома функционально неактивна. Таким образом, ею была сформулирована одна из наиболее плодотворных гипотез в генетике млекопитающих, связавшая морфологию хромосомы с ее функцией.

Доказательства этой гипотезы опираются на два рода данных. Во-первых, нормальный фенотип самок XO у мыши свидетельствует о том, что для полноценного развития ей необходима только одна активная X-хромосома. Во-вторых, у самок мышей, гетерозиготных по некоторым сцепленным с полом генам, обнаруживается мозаицизм. Так, самки, гетерозиготные по сцепленным с полом мутациям, затрагивающим окраску шерсти, имеют шкуру с пятнами нормальной и мутантной окраски. Этот факт заставляет думать, что мозаичный фенотип в данном случае обязан своим возникновением инактивации одной или другой X-хромосомы еще в эмбриональном развитии. Эта гипотеза предсказывает, что все гены, локализованные в X-хромосоме и находящиеся в гетерозиготном состоянии, будут иметь мозаичное проявление, так же будут проявляться и аутосомные гены, транслоцированные на X-хромосому. Когда фенотип не связан с локальным действием гена, возможны различные типы фенотипических распределений. Следовательно, фенотип будет промежуточным между нормальным и гемизиготным, что приведет к неполной пенетрантности у гетерозигот.

В том же году Лайон попыталась на основе своей гипотезы объяснить данные, полученные при изучении заболеваний человека, наследуемых сцепленно с полом: при X-сцепленном глазном альбинизме у гемизиготного мужчины нет пигмента в эпителиальных клетках сетчатки и глазное дно имеет бледную окраску. У гетерозиготных женщин наблюдается неправильная пигментация сетчатки, с пигментированными и не содержащими пигмента пятнами, так что глазное дно имеет не равномерную окраску, а точечную. На рис. 2.73 изображено такое глазное дно. Лайон предсказала также, что должен существовать мозаицизм и по другим X-сцепленным генам, в частности по вариантам фермента глюкозо-6-фосфат – дегидрогеназы (G6PD).



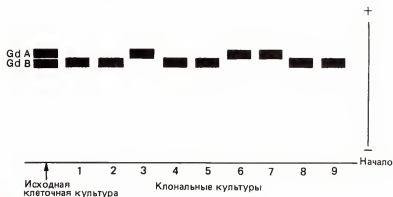
*Доказательство инактивации X-хромосомы по данным генетики G6PD у человека.* Окраска шерсти у мыши, контролируемая X-сцепленными генами, или точечная окраска глазного дна при X-сцепленном альбинизме у человека представляют собой фенотипические признаки, отдаленные от первичного действия гена многими этапами дифференцировки, следовательно, трактовка происхождения таких фенотипов неоднозначна. Эти наблюдения могут служить основой для гипотезы об X-инактивации, но их недостаточно для ее доказательства. Критическая проверка такой гипотезы подразумевает использование более простых и менее многозначных ситуаций. Хорошей экспериментальной моделью являются X-сцепленные гены, первичные эффекты которых можно обнаружить уже на уровне белка. Первым X-сцепленным локусом, для которого такой анализ стал возможным, оказался ген G6PD. Действительно, Бейтлер (1962, 1964) [302, 303] независимо от Лайон разработал концепцию инактивации X-хромосомы, исходя из анализа вариантов G6PD у человека. Несмотря на то что женщины имеют две, а мужчины — только одну копию гена G6PD, средний уровень активности этого фермента одинаков у обоих полов, так же как и у индивидов с дополнительными X-хромосомами (XXX, XXY). Следовательно, должен действовать механизм дозовой компенсации. Если женщина гетерозиготна по электрофоретическим вариантам G6PD, то гипотеза случайной инактивации предсказывает, что в одних клетках будет активна X-хромосома с нормальным аллелем, а в других — с мутантным. Отсюда следует, что данная отдельная клетка способна экспрессировать только один из двух вариантов фермента. Такой мозаицизм действительно был обнаружен Бейтлером в эритроцитах при помощи остроумного, но непрямого метода [304]. Позже этот феномен был подтвержден многими авторами и различными методами [358, 424]. Один из подходов использует клонирование фибробластов в культуре. В африканской популяции ген G6PD полиморфен и представлен двумя частыми аллелями GdA и GdB. В отдельных клонированных фибробластах негритянки, гете-



**Рис. 2.73.** Глазное дно 6-летней дочери мужчины с X-сцепленным глазным альбинизмом. Распределение пигментированных пятен у этой гетерозиготы явно неслучайное [8].

розиготной по этим аллелям, обнаружены либо GdA, либо GdB варианты (рис. 2.74), но не оба вместе. При обследовании другой женщины, гетерозиготной по недостаточности G6PD, обнаружили аналогичное явление: в одних клонах активность фермента была нормальной, а в других — очень низкой. Еще одно доказательство теории X-инактивации получено при изучении лейомиомы матки у женщины, гетерозиготной по вариантам A и B G6PD. В опухолевой ткани неизменно обнаруживали только один из двух мутантных типов, в то время как в нормальной ткани матки обнаружены оба типа. Эти явления возможны только при наличии трех условий.

1. Активен только один аллель.
  2. Опухоль начиналась с единственной клетки, т. е. она представляет собой клон единичной клетки.
  3. Индивидуальные X-хромосомы остаются либо активными, либо неактивными в течение всего периода роста опухоли.
- Эти данные подтверждают не только гипотезу Лайон, но и концепцию моноклонального происхождения опухолей. Эксперименты с отдельными клетками были прове-



**Рис. 2.74.** Электрофоретическое разделение G6PD из разрушенных ультразвуком клеток культуры ткани гетерозиготной женщины с генотипом GdAB. Обнаружено два компонента

G6PD – GdA и GdB. В клонах, происходящих из единичных клеток, выявляется либо GdA, либо GdB, но не оба одновременно [93].

дены и в отношении X-сцепленных аномалий ферментов, например в отношении недостаточности по гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазе (HPRT). И в этом случае феномен случайной инактивации X-хромосомы был подтвержден. Генетический дефект по HPRT использовался в качестве модели для изучения механизмов действия гена у человека во многих аспектах, что подробнее будет обсуждаться в разд. 4.2.6.

Особенно информативным оказалось обследование женщин, гетерозиготных одновременно по G6PD и по другому X-сцепленному ферменту, фосфоглицераткиназе (PGK) [303]. Было изучено 56 отдельных клеточных клонов, в 33 из них обнаружены фенотипы GdA и PGK-1, в то время как в 23 остальных – GdB и PGK-2. Если бы инактивация этих двух локусов происходила независимо друг от друга, то следовало бы ожидать появления клонов с фенотипом GdA, PGK-2 или GdB, PGK-1.

*Другие примеры инактивации X-хромосомы у человека.* Инактивация X-хромосомы у человека была продемонстрирована для многих X-сцепленных признаков и с помощью разных методов. Особенно интересна демонстрация мозаицизма сетчатки при цветовой слепоте красно-зеленого типа

[309]. Сетчатку женщины, гетерозиготной по цветовой слепоте, освещали узким пучком красного или зеленого света. При этом, как и ожидалось, были обнаружены пятна дефектного цветовосприятия, поскольку сетчатка имела мозаичное строение из нормальных и дефектных клонов.

Ангидротическая эктодермальная дисплазия является редким X-сцепленным заболеванием. У пораженных мужчин нет зубов, потовых желез, имеется гипотрихоз, тогда как у гетерозиготных женщин выявляются участки кожи как нормальные, так и лишенные потовых желез [470].

При хроническом грануломатозе с нарушением функции лейкоцитов (30640) [714] бактерицидная активность гранулоцитов резко снижена: они нормально поглощают стафилококки, но не переваривают их. У гетерозиготных женщин имеются две популяции лейкоцитов – нормальная и аномальная [480, 542]. При других X-сцепленных заболеваниях также обнаружены явления, предсказываемые гипотезой Лайон [133].

*Клетки, в которых вторая X-хромосома не инактивируется* [424, 426]. Тельце X-хроматина становится видимым примерно на 16-й день, на стадии бластоцисты, и вряд ли функциональная инактивация X-хромосомы происходит раньше. Если одна из X-

хромосом с самого начала была неактивной, то различия в фенотипах нормального мужчины (XY) и больного с синдромом Клайнфельтера (XXY), а также нормальной женщины (XX) и больной с синдромом Тернера (XO) нуждались бы в ином объяснении, чем предполагаемая Лайон возможностью действия генов X-хромосом до инактивации. Имеются доказательства того, что в ооцитах, так же как и в сперматозоидах, X-хромосома не инактивируется. У мыши фермент LDH контролируется аутосомным геном, а G6PD, так же, как и у человека, — X-сцепленным геном. В оплодотворенных ооцитах XO была обнаружена сниженная наполнину (по сравнению с XX-ооцитами) активность G6PD, а активность LDH была одинаковой [345]. Отсутствие эффекта дозовой компенсации можно объяснить только исходя из предположения, что в XX-ооцитах обе X-хромосомы являются активными.

Одна из систем групп крови человека, система Xg, наследуется сцепленно с полом. Согласно предсказаниям гипотезы Лайон, следовало бы ожидать, что у гетерозиготных женщин имеются две популяции эритроцитов, в каждой из которых клетки несут антиген, детерминированный той X-хромосомой, которая оказалась активной в клетке-предшественнице данной популяции. Однако вскоре стало ясно, что это предсказание неверно, поскольку не было обнаружено двух разных популяций эритроцитов. Дополнительно допускалась еще возможность того, что антиген Xg образуется не самими эритроцитами, а привносится их окружением, например сывороткой. И это предположение было опровергнуто наблюдениями на химерных близнецах (разд. 3.8.3). Речь идет о женщинах, которые в дополнение к своим собственным эритроцитам получили стволовые клетки крови от их дизиготных близнецов во время эмбрионального развития. Одни эритроциты имели антигены O и Xg<sup>+</sup>, другие были AB и Xg<sup>+</sup>-. Если бы Xg транспортировался из сыворотки, все клетки имели бы тип Xg-генетически «собственный» тип пробанда. Эта загадка была раскрыта, когда установили, что локус Xg расположен вблизи конца короткого плеча X-хромосомы

и что по крайней мере еще один локус, тесно сцепленный с Xg фермента стероидсульфатазы, также не вовлекается в инактивацию. Иначе говоря, дистальная часть короткого плеча X-хромосомы человека не инактивируется [486, 487]. Активный район охватывает, по-видимому, сегменты Xp 22.13 и Xp 22.3 [502]. В отличие от всех остальных районов инактивированной X-хромосомы он реплицируется в ранней S-фазе.

*Что происходит раньше, инактивация X-хромосомы или образование X-хроматина?* На первый взгляд представляется очевидным, что сначала X-хромосома конденсируется с образованием X-хроматина, а затем прекращает функционировать. На самом деле ход событий скорее всего противоположный: сначала происходит инактивация, затем формируется X-хроматин. Такой вывод следует из того факта, что X-хроматин никогда не обнаруживается одновременно во всех клетках. Например, в клонированных культурах фибробластов примерно 30% клеток не имеют X-хроматина. Количество клеток с X-хроматином зависит, по-видимому, от клеточного цикла. Измерения активности G6PD в таких культурах показали, что функциональная инактивация была практически полной и отсутствовало какое-либо соответствие между активностью фермента и числом телец X-хроматина в фибробластах от индивидов с различным числом X-хромосом. Точный механизм инактивации является еще предметом исследований [357].

*Существуют ли генетические различия в паттернах X-инактивации?* Каттанан (1975) [321] описал у мыши X-сцепленный ген, который контролирует инактивацию X-хромосомы (X chromosome controlling element, Xce). Существует мутантный аллель этого гена «выраженная мозаичность» (high variegation, O<sup>h</sup>), который заставляет X-хромосому оставаться в активном состоянии. Исходя из этого наблюдения, можно предполагать, что и у человека инактивация X-хромосомы может находиться под генетическим контролем. Неслучайная инактивация должна иногда приводить к появлению гетерозигот с клиническими признаками

Х-сцепленных рецессивных болезней. Если инактивация происходит достаточно рано во время эмбрионального развития — в то время, когда количество клеток данной ткани еще довольно невелико, — то и в этом случае должны иногда появляться пораженные гетерозиготы. Они являются крайними вариантами, которые образуют «хвост» биномиального распределения всех паттернов инактивации. Однако гипотеза случайной инактивации не предсказывает накопления таких случаев среди sibсов. Тем не менее накопление наблюдалось в случае мышечной дистрофии Дюшенна [451] и в одной семье со сфинголипидозом (болезнью Фабри) [488]. В этой семье девять гетерозиготных дочерей больного мужчины можно было разделить на два класса: в одной группе у четырех дочерей активность  $\alpha$ -галактозидазы А достигала 50%, в то время как в другой группе активность составляла 20% (активность определяли в лейкоцитах). Авторы обсуждают гипотезу, согласно которой имеется ген, детерминирующий предпочтительную инактивацию X-хромосомы с нормальным аллелем. Случаи гетерозиготного проявления мышечной дистрофии Дюшенна можно, вероятно, объяснить таким же образом. Точное определение генной активности у гетерозигот по X-сцепленным болезням способствует накоплению и обобщению подобных сведений.

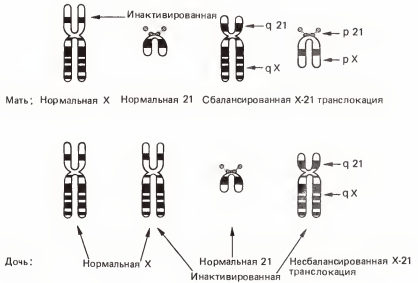
*Х-инактивация и аномальные X-хромосомы* [529]. Когда были описаны первые аномальные X-хромосомы у человека (изохромосомы по длинному плечу, кольцевые хромосомы или делеции части длинного плеча), правила инактивации казались простыми: всегда инактивируется аномальная X-хромосома, в клетке остается одна нормальная активная X-хромосома. Чтобы объяснить столь специфический характер инактивации, были выдвинуты две гипотезы. В соответствии с селекционной гипотезой нормальная и аномальная X-хромосомы инактивируются случайно, так же как и в случае, когда обе нормальные. Однако клетки с инактивированной нормальной X-хромосомой оказываются генетически несбалансированными в большей степени и поэтому должны иметь более низкую ско-

рость деления, чем те клетки, в которых инактивирована аномальная X-хромосома и которые являются по сути нормальными. Вторая гипотеза предполагает, что инактивация — облигатное свойство аномальных X-хромосом [156].

По мере накопления данных об ауто-сомных или X/X транслокациях становилось очевидным, что ни одна из этих гипотез не может быть полностью верной. Существует три группы таких транслокаций: реципрокные сбалансированные, практически все они X-аутосомного типа, причем общее число хромосом равно 46; несбалансированные X-аутосомные и X/X транслокации, также при наличии 46 хромосом; несбалансированные X-аутосомные транслокации с общим числом хромосом 45. Мы обсудим данные по первой группе, поскольку для остальных эти данные в основном подтверждают выводы, сделанные для транслокаций первой группы.

В большинстве случаев таких транслокаций нормальная X-хромосома инактивируется. Фенотип проявляется в виде гонадального дисгенеза, иногда в сочетании со слабовыраженными признаками синдрома Тернера. Были описаны семьи, в которых у одного из носителей перестройки инактивирована нормальная, а у другого аномальная X-хромосома. Например, в одной семье у матери обнаружена сбалансированная транслокация X/21 (рис. 2.75). Одна транслокационная хромосома состояла из длинных плеч, другая из коротких плеч X-хромосомы и хромосомы 21 с точкой разрыва вблизи от центromеры (но неясно, с какой стороны). У матери, судя по поздней репликации, инактивированной оказалась нормальная X-хромосома. В клетках этой женщины присутствовало одно телоце X-хроматина. В то же время у ее дочери имелась ие маленькая, а большая транслокационная хромосома и две нормальные X-хромосомы. Одна из них была инактивирована, но в отличие от матери транслокационная хромосома тоже была инактивирована. Следовательно, дозовая компенсация достигалась у матери и дочери сходным образом. Однако у дочери инактивация распространялась за пределы X-хромосомы на транслоцированное длинное плечо хромосомы 21, что привело к появлению дополнительных клинических признаков, сходных с теми, которые иногда описываются при моносомии 21.

Этот случай показывает, что гипотеза, согласно которой инактивация определяет-



**Рис. 2.75.** X-дозовая компенсация у матери и дочери с разными наборами X-хромосом. У матери две транслокационные хромосомы X-21 и одна нормальная (она и инактивируется); у доче-

ри две нормальные X-хромосомы, одна из которых инактивирована, и одна транслокационная хромосома, которая тоже инактивирована [501].

ся структурой аномальной X-хромосомы, в общем случае неверна. В этой и других семьях, в которых был обнаружен только один инактивационный паттерн, клетки оставались генетически относительно сбалансированными. Примечательно то, что у большинства носителей сбалансированных транслокаций с участием X-хромосомы имеется аномальный фенотип, тогда как носители сбалансированных транслокаций между аутосомами обычно имеют нормальный фенотип. Возможны два объяснения. Либо непрерывность определенного района длинного плеча X-хромосомы необходима для завершения дифференцировки по женскому типу, и в этом случае дефектный фенотип должен быть связан с явлением, называемым в экспериментальной генетике эффектом положения, либо инактивация одной и той же X-хромосомы во всех клетках вызывает эффект, зависящий, вероятно, от функциональной гемизиготности рецессивного гена. В разных случаях, вероятно, действует тот или иной механизм.

У некоторых больных с несбалансированными транслокациями X-хромосом обнаруживается двойное тельце X-хроматина, чего никогда не бывает у нормальных индивидов. Это еще одно наблюдение, относящееся к инактивации X-хромосомы. Описано много изохромосом по длинному плечу  $i(Xq)$  и в то же время лишь единичные случаи  $i(Xp)$ , хотя оба типа должны встречаться с одинаковой частотой, так как возникают вследствие аномального деления центромеры [519]. С другой стороны, известны Xq-делеции. Эти факты легли в основу гипотезы, согласно которой предполагается существование инактивационного центра в проксимальной части длинного плеча X-хромосомы. Если этот центр присутствует в аномальной хромосоме, то она инактивируется. Если два центра, как при некоторых несбалансированных транслокациях X-хромосомы, то могут образоваться два тельца X-хроматина. Если центра нет, как в большинстве  $i(Xp)$ -изохромосом, инактивация не может произойти и зигота, будучи функционально трисомной по ко-

Х-хромосомная конституция									
Число	X p X q	2 2	3 3	2 2	1 1	1 2	1 3	2 Частично 2 Частично 1	3 В основном 3, Частично 1
Генетически активны	Одна X (случайно)		Обычно транслокация X	Нормальная X					
Фенотип	Нормальный	XXX	Нормальный или синдром Тернера	Синдром Тернера		Частичный синдром Тернера	Гонадальный дисгенез	Гонадальный дисгенез с другими симптомами синдрома Тернера	

**Рис. 2.76.** Моносомия, дисомия и трисомия по разным частям X-хромосомы человека, их инактивационные паттерны и фенотипические эффекты.

роткому плечу X-хромосомы, становится крайне несбалансированной и неспособной к развитию. Недавно получены данные о том, что инактивационный центр может быть расположен на границе между проксимальным Q-темным и Q-светлым сегментами (~ q13) [530]. По некоторым наблюдениям инактивационный импульс, создаваемый этим центром, может распространяться по длине X-хромосомы в направлении короткого, но не длинного плеча. На рис. 2.76 показаны различные типы аномальных X-хромосом, их инактивационный паттерн и фенотипы. Относительно X-аутосомных транслокаций имеется намного больше сообщений, касающихся мышей, чем человека. Некоторые данные по этому вопросу также подкрепляют гипотезу о возможном существовании инактивационного центра. Имеются, в частности, указания на то, что можно даже усилить или ослабить с помощью отбора степень инак-

тивации аутосомного сегмента, транслоцированного на X-хромосому. Относительно молекулярных механизмов инактивации X-хромосомы есть много гипотез, однако пока какие-либо определенные выводы преждевременны [357].

*Происходит ли инактивация X-хромосомы в сперматогенезе?* Лифшиц и Линдслей (1972) [420] выдвинули гипотезу, согласно которой X-хромосома инактивируется не только у индивидов, имеющих их несколько, но также и в первичных сперматонитах во время нормального сперматогенеза. Вполне возможно, что это необходимо для нормального созревания сперматозоидов. Больные мужского пола с синдромом Дауна бесплодны из-за остановки сперматогенеза. При исследовании стадии пахитены в сперматогенезе у больных с синдромом Дауна обнаружено, что дополнительная хромосома 21 конъюгирует с X-Y комплексом [399]. Для объяснения некоторых фактов, полученных на мышах, также необходимо допустить, что мейотическая

конъюгация аутосом или их плеч со свободной частью X-хромосомы должна быть обычным явлением, и это может приводить к угнетению инактивации X-хромосомы и созреванию сперматозоидов.

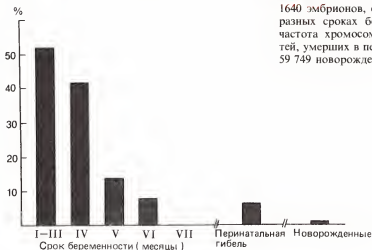
### **2.2.4. Хромосомные aberrации и спонтанные аборты [413]**

*Частота пренатальной утраты зигот у человека.* Около 15% всех беременностей у человека прерываются диагностируемыми спонтанными абортами, если аборт определять как прекращение беременности до 22-й недели (вес эмбриона 500 г и меньше). Однако доказано, что у человека, так же как и у других млекопитающих, теряется много больше зигот на самых ранних стадиях развития, и часто они имеют тяжелые пороки развития [316; 318; 413]. Согласно недавним оценкам, почти 50% всех зачатий не реализуется в пределах первых двух недель развития, до того, как беременность диагностируется [498]. У человека эта ранняя утрата зигот обычно не распознается. В прошлом в качестве причин большей части выкидышей указывались внешнесредовые факторы, такие, например, как хронический эндометрит, который может ухудшать нормальное питание зародыша. Однако высокая частота аномалий развития у абортусов связана скорее с дополнительными — эндогенными причинами. Когда выяснилось, что именно хромосомные aberrации у человека являются причиной синдромов с множественными пороками развития и сниженной жизнеспособностью, исследователи занялись анализом абортированных эмбрионов.

*Частота хромосомных aberrаций.* Уже в 1961 г. были описаны два абортуса с триплоидией [335; 475], а в 1963 г. в первых двух сводках цитогенетических исследований абортусов [316; 324] выявилась неожиданно высокая доля эмбрионов с хромосомными аномалиями. В последующие годы на эту тему было опубликовано много работ. В недавнем обзоре собраны данные о 3714 образцах из правильно подобранных групп, причем оказалось, что 1499 (40,4%) имеют хромосомные aberrации [413]. Между этими группами наблюдались значительные

колебания в доле аномальных кариотипов, что связано, вероятно, с факторами отбора материала, такими, как материнский возраст, неудачная постановка культур клеток, срок беременности. Последний параметр является, по-видимому, наиболее важным. На рис. 2.77 данные представлены в соответствии со сроком беременности. Чаше всего выкидыши происходят в интервале между 8-й и 15-й неделями. Этот показатель снижается примерно до 5% в последнюю неделю беременности. Относительно низкая частота в первые недели беременности объясняется длительной задержкой аномального эмбриона в матке и тем, что такие ранние беременности часто не распознаются. Принимая 15% как частоту диагностируемых спонтанных абортусов среди всех распознаваемых беременностей, антенатальная утрата зигот из-за хромосомных aberrаций может быть оценена в 5–6%. Это почти в 10 раз больше, чем частота хромосомных aberrаций среди живорожденных (около 0,5–0,6%; разд. 5.1.2.1). Кроме того, эти цифры не включают случаи утраты зигот перед имплантацией в матку. В настоящее время в опытах на животных четко доказано, что предимплантационные потери могут быть даже больше (разд. 5.2). Очевидно, частота спонтанных абортусов на самом деле выше. Ясно также, что спонтанные аборты являются мощным средством ранней элиминации дефектных зигот.

*Типы хромосомных aberrаций у абортированных плодов.* С самого начала исследований спонтанных абортусов стало ясно, что распределение типов хромосомных аномалий среди них отличается от того, которое наблюдается у новорожденных. Некоторые aberrации, например XO, встречаются как у новорожденных, так и среди абортусов. Другие, например триплоидия, почти всегда ведут к выкидышу и совместимы с рождением живого ребенка только в исключительных случаях (разд. 2.2.1). Третьи, такие, как трисомия 16, можно обнаружить исключительно у абортированных плодов. Более детальный анализ стал возможен с введением методов дифференциального окрашивания. Кризи и соавт. (1976) [329] опубликовали наиболее обширные данные.



**Рис. 2.77.** Частота хромосомных аномалий среди 1640 эмбрионов, спонтанно аборттированных на разных сроках беременности. Показана также частота хромосомных аномалий среди 675 детей, умерших в перинатальном периоде, и среди 59 749 новорожденных [413].

В 15 больших больницах юго-восточной Англии в период с сентября 1971 г. по апрель 1974 г. был собран и изучен материал от 2607 спонтанных абортусов.

Плод или плодный мешок удалось обнаружить при 1767 одноплодных и при 36 близнецовых беременностях, в остальных 804 случаях не было найдено ни плода, ни оболочек. Культивировали клетки 1655 одноплодных образцов, остальные были непригодны из-за крайней мацерации или неправильной обработки до поступления в лабораторию. В 513 культурах не было роста, а в 201 пролиферация обнаружена, но пригодных для анализа метафаз не было. Таким образом, кариотип смогли проанализировать в 941 образце одноплодных спонтанных абортусов. Это показывает, что даже в хорошо спланированном эксперименте много материала пропадает из-за непредвиденных технических причин и что искажения в оценке частоты хромосомных аномалий у абортусов неизбежны.

При изучении 941 одноплодного абортуса у 287 (30,5%) выявлены хромосомные аномалии. В табл. 2.11 приведены частоты основных типов трисомий. В половине случаев были обнаружены первичные аутосомные трисомии, около одной четверти абортусов оказались X-моносомиями и одна восьмая — полиплоидами. Остальные были в основном моносомны или несли транслокации. Из 149 первичных аутосомных трисомий или транслокаций 89 идентифицированы с помощью дифференциального окрашивания. Из них в 35 случаях обнаружена дополнительная хромосома 16. Дополнительные хромосомы 21 и 22 встречались примерно в 10% всех трисомий, в то время

как добавочная хромосома 2 или хромосома 18 выявлены примерно в 5% каждая. Не обнаружена трисомия по хромосомам 1, 5, 6, 7, 11, 12, 17 или 19. Из 36 образцов близнецовых абортусов удалось кариотипировать по крайней мере одного близнеца в 26 случаях. Хромосомных аномалий обнаружено не было.

**Таблица 2.11.** Частота разных аутосомных трисомий в материале 183 спонтанных абортусов (%) [329]

1	—
2	4,48
3	1,12
4	1,90
5	—
6	0,53
7	1,60
8	3,72
9	3,72
10	2,13
11	—
12	—
13	2,36
14	6,50
15	10,04
16	32,11
17	—
18	5,58
19	—
20	1,90
21	12,54
22	9,76
Всего	99,99



**Фенотипы абортусов.** Имеются значительные различия в фенотипах между плодами с различными хромосомными наборами. Трисомия хромосом 2 и 3, например, не совместима с формированием эмбриона и приводит к образованию пустого зародышевого мешка. Трисомия 9 определяет, по-видимому, прекращение или искажение эмбрионального развития, что подтверждается редкими наблюдениями над выжившими, несмотря на тяжелые пороки развития, новорожденными (разд. 2.2.1). Эмбриональное развитие в целом, хотя и с нарушениями, совместимо, по-видимому, со всеми типами трисомии D. С другой стороны, трисомия 16 приводит к тяжелым и ранним нарушениям развития – в большинстве случаев наблюдаются пустые зародышевые мешки и сильно дезорганизованные плоды. Наоборот, трисомия 8 вызывает намного меньшие нарушения, что способствует относительно более частому выживанию в постнатальном периоде. Из двух типов трисомии по группе G с более благополучным развитием совместима трисомия 21 в отличие от трисомии 22. Тем не менее, исходя из собственных и литературных данных, авторы считают, что 60% всех зигот с трисомией 21 абортируются!

Очень широкая вариабельность фенотипического проявления обнаружена среди зигот XO, которые представляют наиболее частый кариотип среди всех исследованных абортусов. Наблюдается широкий спектр фенотипов – от внешне нормальных эмбрионов до пустых зародышевых мешков. Характерно наличие гигромы, то есть водяночного утолщения тканей, которое имеет место также и у живых новорожденных с кариотипом XO (разд. 2.2.3).

Триплоидия (12 случаев) была найдена у эмбрионов и плодов с различными пороками развития (разд. 2.2.1). В противоположность этому тетраплоидия почти всегда ассоциировалась с неповрежденными пустыми зародышевыми мешками, два из них имели аномальную амниотическую полость. Следовательно, такое хромосомное нарушение несовместимо с развитием зародыша.

Еще в одном недавнем исследовании содержатся сведения о 3714 спонтанных абортусах [498]. Более половины аномальных кариотипов представлены трисомиями, около 20% – моносомиями, 18% – полиплоидиями, 3% – структурными аномалиями, остальные – прочими нарушениями. Были обнаружены, хотя и с различной частотой, все типы трисомий, за исключением трисомии 1. Эти частоты превышали ожидаемые, основанные на теоретических расчетах общей частоты численных aberrаций (трисомий и моносомий вместе).

Если принять, что моносомия и трисомия всех аутосом возникают равновероятно, а ранняя элиминация абортусов происходит с неодинаковой частотой, то около 10–30% всех зигот человека должны нести хромосомные аномалии. В определенной степени эти соображения подтверждаются результатами исследования хромосом в сперматозоидах человека [431; 432]. Из 1000 хромосомных наборов сперматозоидов (33 нормальных мужчин) 8,5% содержали хромосомные aberrации, среди них 5,2% были анеуплоидными. Нуллисомные и дисомные сперматозоиды, которые могут формировать моносомные или трисомные зиготы, образуются примерно с одинаковой частотой, причем представлены все группы хромосом с небольшим избытком аномалий хромосом группы G. Для анеуплоидий, возникающих во время оогенеза, такие данные отсутствуют. Однако хорошо известно, что нерасхождение во время оогенеза обнаруживается много чаще (или более часто совместимо с возникновением оплодотворенных зигот), чем нерасхождение во время сперматогенеза (разд. 5.1.2).

С другой стороны, довольно мало оснований считать, что наблюдения над искусственно оплодотворенными *in vitro* ооцитами ( $\frac{2}{3}$  из них имеют хромосомные аномалии) могут отражать нормальную ситуацию [294].

**Некоторые выводы.** Данные исследований хромосом у абортусов позволяют сделать немало выводов. Вклад разных хромосом в распознаваемую утрату всех зигот неодинаковый. Неравномерность этого вклада становится особенно очевидной, когда сравнивают абсолютные и относительные частоты аутосомных трисомий. Это обстоятельство не обязательно указывает на различия в частоте нерасхождения в мейозе или во время ранних делений дробления. Однако наибольший риск нерасхождения имеется, по-видимому, для пяти акроцентрических пар D- и G-групп. Явные раз-

личия в частоте трисомий по остальным аутосомам могут быть объяснены различным временем гибели зигот. Например, если трисомия хромосомы 1 ведет к гибели зиготы до или во время образования морулы, все трисомии хромосомы 1 останутся нераспознанными. Фенотипическая вариабельность может быть широкой даже среди зигот с одной и той же хромосомной аномалией. Это особенно заметно при сравнении зигот с разными кариотипами. Некоторые, такие, как трисомия 21, совместимы с жизнью. Другие, например трисомия 16, несовместимы даже с ранними стадиями эмбрионального развития и, следовательно, полностью летальны. Сравнение анеуплоидных абортусов, а также тканевых культур от выживших носителей анеуплоидий на различных уровнях биохимического и морфологического анализа может стать важным инструментом изучения генетической регуляции процессов эмбрионального развития.

Этот вопрос будет снова обсуждаться в гл. 4, посвященной действию гена (разд. 4.7.4).

## 2.3. Организация генетического материала в хромосомах человека

Два первых десятилетия современного этапа в изучении хромосом человека прояснили многие аспекты организации генетического материала. Однако мало было конкретной информации о том, как эти знания могут быть интегрированы с данными молекулярной биологии, чтобы способствовать созданию молекулярной модели хромосомы. В последнее время, особенно в связи с развитием «новой генетики» в 70-х гг., стала быстро накапливаться новая информация. В настоящее время получены ответы на многие вопросы, остававшиеся нерешенными еще несколько лет тому назад.

В следующем разделе мы попытаемся в общих чертах охарактеризовать новые данные, более подробно они будут проанализированы дальше.

### 2.3.1. Структура хроматина

#### 2.3.1.1. Уникальная и повторяющаяся ДНК

*Избыточность ДНК в геноме человека.* Вскоре после того, как генетический код был расшифрован (в начале 60-х гг.), ученые пришли к выводу об избыточности ДНК в эукариотических клетках. По данным разных авторов, содержание ДНК в диплоидной клетке человека составляет примерно  $7,3 \cdot 10^{-12}$  г (размах от 6,6 до 8,0). Зная мол. массу оснований, можно подсчитать, что нуклеотидная пара А—Т (аденин—тимин) имеет массу  $1,025 \cdot 10^{-21}$  г, а нуклеотидная пара G—C (гуанин—цитозин)— $1,027 \cdot 10^{-21}$  г. Следовательно, весь диплоидный набор содержит приблизительно  $7,1 \cdot 10^9$  нуклеотидных пар:

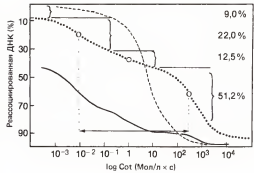
$$\frac{7,3 \cdot 10^{-12}}{1,026 \cdot 10^{-21}} = 7,1 \cdot 10^9.$$

Если вся эта ДНК входит в состав структурных генов, кодирующих белки, а средний белок, подобно гемоглобину, состоит примерно из 150 аминокислот, то человеческий геном должен содержать примерно 6–7 млн. генов [1338; 1339]. В настоящее время известно, что эта цифра завышена примерно на два порядка. «Информативная» (кодирующая) ДНК чередуется с последовательностями, которые не транслируются в аминокислотные последовательности. Некоторые из них имеют какие-то специфические функции, для других функции до сих пор не обнаружены.

Факты, свидетельствующие об избыточности ДНК в клетках эукариот, были известны и раньше. Например, при изучении гигантских хромосом *Drosophila* и *Chironomus* оказалось, что диски в этих хромосомах имеют среднюю длину 20 000–50 000 нуклеотидных пар (20–50 т.п.н.). С другой стороны, данные генетического анализа свидетельствуют о том, что один диск (+ междиск) в норме содержит только один ген [1042]. Прямой анализ генома человека, однако, нуждается в новых методах.

**Повторяющаяся ДНК** [1317; 509; 409]. Большую роль в развитии представлений о структуре генома сыграло открытие того, что ДНК высших организмов содержит большую фракцию повторяющихся последовательностей. Выделенную из клеток высокомолекулярную ДНК можно фрагментировать на отрезки примерно одинаковой длины, а затем такие короткие двухцепочечные структуры денатурировать, т. е. разделить на одноцепочечные с помощью нагревания в солевом растворе. В таком растворе одноцепочечные фрагменты могут свободно перемещаться и случайно сталкиваться один с другим. При резком понижении температуры они, встречаясь с комплементарными партнерами, будут формировать двойные спирали ДНК. В этом состоит простой метод установления комплементарности цепей ДНК.

Если бактериальную ДНК подвергнуть тепловой денатурации указанным образом, а затем идентифицировать фракцию реассоциировавшей после отжига двухцепочечной ДНК по исходной концентрации молекул  $C_0$  и времени реакции ( $t$ ), то получается линейная зависимость (на логарифмическом графике этому соответствуют S-образная кривая,  $C_0t$ -кривая) (рис. 2.78). Если провести такой эксперимент с фрагментами человеческой ДНК длиной примерно в 600 пар оснований, то кривая будет совершенно другая. Сразу же после начала отжига обнаруживается небольшой процент реассоциировавшей двухцепочечной ДНК. Крутой наклон кривой показывает, что следующая фракция ДНК отжигается примерно в 50 000 раз быстрее, чем бактериальная ДНК; еще одна фракция ДНК отжигается быстрее бактериальной в 10–1000 раз. Остальная ДНК ( $\approx 50\%$ ) характеризуется такой же кинетикой, как и бактериальная. Эти данные можно объяснить следующим образом: небольшая часть ДНК человека имеет области, в которых комплементарные последовательности располагаются на одной и той же цепи, но в обратном порядке (палиндром). Эта ДНК может реассоциировать очень быстро, просто складываясь вместе. Другая фракция содержит повторяющиеся последовательности, которые реассоциируют, образуя двухцепочечную



**Рис. 2.78.** Кинетика отжига фрагментов ДНК разной длины у бактерии и человека. Указана доля (%) двухцепочечной, реассоциированной ДНК для разных концентраций продукта ДНК ( $C_0$ ) и времени ( $t$ ). Пунктирная S-образная кривая соответствует бактериальной ДНК и характерна для уникальной фракции. Точечная кривая — профиль реассоциации фрагментов ДНК человека длиной в 600 оснований. Можно выделить четыре класса: 9% имеют неизмеримо быструю скорость отжига; 22% характеризуются  $C_0t_{1/2} = 10^{-2}$ ; 12,5% —  $C_0t_{1/2} = 1,0$  и 51,2% —  $C_0t_{1/2} = 495$ .  $C_0t_{1/2} = 10^{-2}$  означает, что отжиг происходит примерно в 50 000 раз быстрее, чем при  $C_0t_{1/2} = 495$ . Нижняя кривая показывает кинетику реакции фрагментов длиной 1,3 т.п.н. Они реассоциируют намного быстрее. Это означает, что большинство сегментов содержит повторяющиеся последовательности. Только около 10% ДНК ведет себя как уникальная. (Данные Schmid, Deininger, 1975; рисунок из [499].)

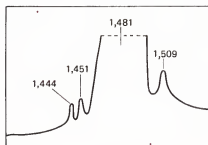
ДНК; в данном случае скорость реассоциации зависит от числа идентичных (или почти идентичных) повторов. Наконец, имеются еще уникальные последовательности ДНК (единичные копии), кинетика реассоциации которых сходна с таковой для бактериальной ДНК (рис. 2.78).

*Как уникальные и повторяющиеся последовательности ДНК расположены относительно друг друга?* В разных работах показано, что несколько больше 50% ДНК генома человека представлено уникальными фрагментами длиной около 2 т.п.н. Они распределены в основном между умеренно повторяющимися последовательностями

ми, длина которых составляет 0,3 т.п.н. Многие из этих повторяющихся последовательностей весьма сходны друг с другом. Кроме того, высокоповторяющиеся последовательности ДНК, образованные миллионами копий коротких олигонуклеотидов, были обнаружены в таких специфических районах, как центромерная область или длинное плечо Y-хромосомы. Высокоповторяющаяся ДНК часто демонстрирует индивидуальные количественные и качественные различия, не влияющие, однако, на фенотип. Уникальная ДНК включает в себя структурные гены, но лишь небольшая часть этой ДНК представлена структурными генами. Описанная топология последовательностей очень широко распространена и наблюдается даже у весьма отдаленных видов, таких, как млекопитающие, амфибии, гастроподы и даже жгутиковые [509]. Широкое распространение относительно стабильного паттерна предполагает какую-то важную его функцию, которая, к сожалению, пока не выявлена. У некоторых видов, например у *Drosophila melanogaster* и *Chironomus tentans*, подобное распределение коротких последовательностей ДНК не обнаружено.

**Повторяющиеся последовательности ДНК со специфическими функциями.** Некоторые умеренно повторяющиеся последовательности содержат гены, необходимые всем клеткам в каждой фазе индивидуального развития (рибосомной РНК, гистонов, транспортной РНК). Как правило, гены рибосомной РНК (рРНК) являются частью района ядрышкового организатора, а само ядрышко содержит пул рРНК. У человека районы ядрышковых организаторов расположены в коротком плече акроцентрических хромосом (13–15; 21; 22). Для определения числа генов рРНК у человека был использован метод гибридизации РНК–ДНК in vitro [1021; 1022]. По соотношению объема фракции ДНК, гибридизующейся с рРНК, с общим содержанием ДНК в ядрах клеток человека, было определено среднее число копий рибосомных генов в диплоидной клетке. Оно оказалось равным приблизительно 416–443.

Мультигенное семейство, образованное



**Рис. 2.79.** Сателлитная ДНК человека: аналитическое ультрацентрифугирование тотальной плацентарной ДНК в градиенте плотности сульфата цезия в присутствии ионов серебра свидетельствует о наличии сателлитов I (1,444), II (1,451), и III (1,509). (По Miklos and John, Amer. J. Hum. Genet., 31, p. 266, 1979.)

многочисленными генами вариабельных участков иммуноглобулинов (разд. 4.4), включает столь большое количество копий, что соответствующие последовательности ДНК можно отнести к классу умеренно повторяющихся. В разд. 2.3.6.7 описываются другие мультигенные семейства, часть из которых может входить в повторяющуюся фракцию.

**Сателлитная ДНК.** Многие виды ДНК, особенно относящиеся к фракциям высокоповторяющихся последовательностей, характеризуются как сателлитная ДНК. При центрифугировании фрагментированной ДНК в градиенте плотности хлористого цезия выявляется основная полоса или пик. По обе стороны от основного пика часто видны маленькие пики. Соответствующим им ДНК и называется сателлитной. Количество и локализация пиков сателлитной ДНК видоспецифичны (рис. 2.79). Локализация пиков в градиенте плотности хлористого цезия определяется нуклеотидным составом последовательностей. Отдельный пик может стать заметным только в том случае, если состав этой фракции отличается от состава основной фракции ДНК. В хромосомах сателлитная ДНК обычно соответствует конститутивному гетерохроматину. У человека она находится также вне центромерной области в Y-хромосоме и в хромосомах 1, 9 и 16. Она

состоит из коротких высокоповторяющихся последовательностей, которые могут быть представлены несколькими миллионами копий. (Сателлитную ДНК не следует путать с сателлитными районами акроцентрических хромосом. Использование одного и того же термина является неудачным совпадением.) Сравнение фракций сателлитной ДНК человека и других видов, особенно высших обезьян, весьма важно для понимания эволюции человека.

Функция сателлитной ДНК неизвестна и является предметом дискуссий. Например, предполагают, что сателлитная ДНК участвует в распознавании гомологичных хромосом во время мейотической конъюгации или модулирует некоторые регуляторные функции генов. Пока нет убедительных доказательств в пользу той или иной гипотезы. Однако исследования на дрозофиле свидетельствуют о влиянии сателлитной ДНК на кроссинговер [437]. Открытие сателлитной ДНК удивило цитогенетиков тем, что она оказалась локализованной в той части хроматина, которая по данным микроскопического анализа уже многие десятилетия идентифицировалась как гетерохроматин. Относительно недавних открытий «мини-сателлитных» последовательностей ДНК см. разд. 2.3.2.7.

### 2.3.1.2. Гетерохроматин

**Определение и свойства.** Термин «гетерохроматин» был предложен Хейтцем (Heitz, 1928) [469]. Он писал: «У *P. (Pellia) epiphylla* (мох) некоторые участки пяти из девяти хромосом ведут себя по-разному. В телофазе в отличие от остальных участков этих пяти и других четырех хромосом они продолжают оставаться видимыми, даже могут наблюдаться в молодых интерфазных ядрах, а также в ядрах полностью сформировавшихся клеток». Сохранение конденсированного состояния в интерфазе является основной характеристикой гетерохроматина [313]. Позднее были обнаружены другие особенности. Например, репликация ДНК во время S-фазы происходит в гетерохроматиновых сегментах намного позже, чем в эухроматиновых. Обычно различают два класса гетерохроматина: конститутивный и

факультативный. У человека факультативная фракция представлена инактивированной X-хромосомой у женщин и мужчин, которые несут дополнительные X-хромосомы (разд. 2.2.3.3).

**Гетероморфизмы: функция и отношения с сателлитной ДНК** [410]. Существует значительная межиндивидуальная изменчивость гетерохроматина (раздел. 2.1.2.3), превышающая изменчивость эухроматической части генома. Такие варианты называют «гетероморфизмами». Кроме тех районов, о которых говорилось ранее (вторичные перетяжки хромосом 1, 9, 16), обнаружен гетероморфизм в центромерных и спутничных районах акроцентрических хромосом. В медико-генетической практике этот гетероморфизм используется, например, для установления материнского или отцовского происхождения хромосом у больных с генными мутациями, такими, как синдром Дауна (разд. 5.1.2.3), или в случае спорного отцовства. В течение многих лет было распространено представление о том, что в конститутивном гетерохроматине нет классических менделевских генов, но большинство исследователей не хочет признавать отсутствие у конститутивного хроматина какой-либо функции. Напротив, предполагают, что у него много функций. Возможно, например, что он влияет на стабилизацию структуры хроматина и выполняет роль «телохранителя», защищая генетически значимые последовательности ДНК эухроматических районов от внешних воздействий [385].

Высказанные соображения наталкивают на мысль, что явления, описанные в классической цитогенетике и положенные в основу понятия о гетерохроматине, сродни тем фактам, которые были открыты совсем недавно и легли в основу таких понятий, как высокоповторяющаяся и сателлитная ДНК (хотя эти недавние результаты получены с помощью совершенно иных экспериментальных подходов). И сателлитная, и высокоповторяющаяся ДНК, и гетерохроматин расположены главным образом вблизи центромеры, но могут обнаруживаться и в других районах некоторых хромосом (1, 9, 16, Y). В них отсутствуют известные струк-

турные гены, но они не полностью идентичны: например, небольшие количества сателлитной ДНК были обнаружены при помощи гибридизации *in situ* (разд. 2.3.2.3 и 7.2.2) вне центромерного конститутивного гетерохроматина. Функциональный смысл такой локализации остается несясным.

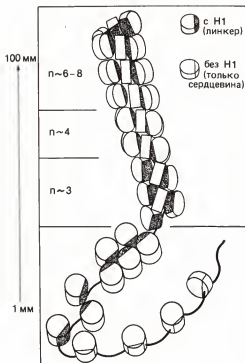
### 2.3.1.3. Нуклеосомная структура хроматина [1172; 421]

**Химический состав хроматина.** Кроме ДНК хромосомы содержит много разных белков. Вместе с двухцепочечной ДНК эти белки образуют хроматин. Среди них больше всего гистонов — положительно заряженных щелочных белков с молекулярной массой около 10 000–20 000. Их можно разделить на пять классов (Н1, Н2А, Н2В, Н3 и Н4). Другие, так называемые негистоновые, белки представлены в очень небольших варьирующих количествах. Негистоновая фракция гетерогенна, в нее входит, например, много ферментов.

**Нуклеосомы [1172].** Хроматиновая нить состоит из повторяющихся единиц — нуклеосом, представляющих собой набор гистоновых молекул, ассоциированных примерно с 200 парами нуклеотидов ДНК. Набор гистонов в таких единицах состоит из любых двух белков четырех типов: Н2А, Н2В, Н3 и Н4. Они свернуты как глобулы, образуя цилиндр. ДНК-вый компонент нуклеосомы имеет две части: «сердцевину» (или



**Рис. 2.80.** Схематическое изображение отдельной нуклеосомы.



**Рис. 2.81.** Схематическое изображение нуклеосомной структуры хроматина: в опытах *in vivo* структура зависит от концентрации соли. При 100 ммоль NaCl на одном витке хроматиновой нити умещается 6–8 нуклеосом (вверху). При снижении концентрации соли остается только 3–4 нуклеосомы на виток (в центре). В отсутствие соли нуклеосомы мало контактируют одна с другой. (По Küppers, *Molekulare Genetik*, 3rd, ed., 1982.)

кор — от англ. core) из 140 пар нуклеотидов (п. н.) и «связующее звено» (или линкер — от англ. linker). Длина линкера варьирует от 15 до 100 п. н. в зависимости от типа клетки. Такие линкеры, очевидно, связывают нуклеосомы друг с другом. Гистон Н1, который почти вдвое длиннее, чем другие гистоны, отвечает за целостность нуклеосомной структуры. При удалении Н1 (что легко сделать в эксперименте) цепочка становится менее плотно упакованной (рис. 2.80, 2.81). На одну нуклеосому приходится только одна молекула гистона Н1. ДНК

закручена вокруг набора из девяти гистонов; вместе они образуют сферическую частицу с диаметром около 100 Å. Такие частицы лежат, плотно прилегая друг к другу, вдоль хроматинового волокна. Точно не известно, каким образом ДНК связана с гистонами, однако ясно, что структура двойной спирали при этом явно не нарушена. Исследования, проведенные с помощью метода гибридизации ДНК—РНК (см. разд. 2.3.2.3), указывают на то, что в нуклеосомах встречается широкий спектр функционально различных последовательностей ДНК, от уникальных до повторяющихся, активно транскрибирующихся и таких, которые встречаются в конститутивном гетерохроматине. Вероятно, вся хромосомная ДНК эукариотической клетки упакована в нуклеосомы. Доказательства нуклеосомной структуры опираются на три типа данных: электронно-микроскопическое исследование хроматина обнаруживает цепочки частиц, анализ дифракции рентгеновских лучей показывает наличие в хроматине повторяющихся единиц, и наконец, ферментативный гидролиз хроматина микрококковыми нуклеазами позволяет изолировать отдельные нуклеосомы. Возникновение понятия нуклеосомы стимулировало проведение новых экспериментов в различных направлениях, результаты которых в конце концов подтвердили существование нуклеосом и помогли установить свойства этих структур.

#### 2.3.1.4. Интеграция хроматиновых волокон в хромосомную структуру

**Интерфаза.** Интерфазная хромосома представляет собой элементарную фибриллу, состоящую из нуклеосом, соединенных линкерами. Эта фибрилла пронизывает не все ядро, а лишь определенные его области. Возможно, однако, что транскрибируемые хромосомные сегменты распространяются до центра ядра. В норме хроматин сильно спирализован. Относительно точного числа уровней спирализации еще ведется дискуссия. Волокна, соответствующие возрастающим порядкам спирализации, можно описать следующим образом [1042]:

Фибрилла	Степень укорочения:		Диаметр
	по сравнению с предшествующей единицей	с ДНК	
ДНК	1	1	10 Å
Нуклеосома	7	7	100 Å
Нуклеопротеиновое волокно (сферид, бусина, элементарная фибрилла)	6	42	200–300 Å
Интерфазная хромосома	40	1600	1000–2000 Å
Метафазная хроматида	5	8000	5000–6000 Å

*Митотические и мейотические хромосомы.* Как видно из этой таблицы, хромосомы в митозе и в мейозе обнаруживают значительно большую степень спирализации, чем в интерфазе (разд. 2.1.2). Рисунок их сегментации обсуждался в разд. 2.1.2.3. Число субсегментов, которые можно идентифицировать в составе сегментов, зависит от степени конденсации хромосомы (от митотической профазы до метафазы) и качества окрашивания. Это особенно отчетливо можно продемонстрировать при помощи метода преждевременной конденсации хромосом. Верхний предел задается числом хромосомер 30 000–100 000 нуклеотидных пар в длину (см. ниже [201a]). Учитывая, что число нуклеотидных пар на гаплоидный геном приблизительно равно  $3,5 \cdot 10^9$ , а число сегментов, видимых даже в лучших препаратах, не превышает  $\approx 2000$  (разд. 2.1.2.3), можно сделать вывод, что нет даже близкого приближения к такому уровню разрешения. Хромосомные сегменты выявляются и во время ранних фаз мейоза.

Изучение рисунка репликации митотических хромосом показало, что ДНК темных G-сегментов (идентичных светлым R-сегментам и, как правило, ярко флуоресци-

рующим Q-сегментам) реплицируется обычно во второй половине S-фазы. Отдельный сегмент в прометафазной хромосоме является, по-видимому, единицей репликации (которая сама состоит из многих репликонов). Видимо, репликация начинается в одно и то же время. Предполагалось, что такая организация единицы репликации может иметь какое-то функциональное значение. Эти единицы содержат много высокоповторяющихся и нетранскрибируемых последовательностей ДНК. Количество видимых сегментов зависит от степени конденсации хромосом, как показано на рис. 2.82. В полностью деспирализованной хромосоме каждая функциональная единица, содержащая повторяющиеся, некодирующие участки и

уникальные транскрибирующиеся участки, в идеальном случае могла бы распознаваться как структура, состоящая из G-сегмента вместе с R-сегментом. Из этого следует, что R-сегменты должны иметь большую плотность генов, чем G-сегменты и яркие Q-сегменты. В геноме человека такие районы с выраженными R-сегментами найдены в участках 3p, 6p, 11q, 12q, 17q и 19 (p или q). При изучении сцепления (разд. 3.4.3) действительно именно в этих районах оказалось больше генов, чем должно быть при случайном распределении. Кроме того, количество диагностируемых абортот, обусловленных трисомией по этим районам, меньше ожидаемого, следовательно, такая аномалия карриотипа приводит к очень ранней и потому невыявляемой гибели плода [1481]. Существует представление, согласно которому хромосома в метафазе состоит из чередующихся «областей сжатия» (вероятно, идентичных темным G-сегментам) и тех областей, в которых при определенных условиях могут образоваться петли [535]. Районы хромосомы, называемые в классической цитогенетике эухроматическими и гетерохроматическими, вероятно, по тонкой структуре друг от друга отличаются.

### 2.3.1.5. Интегральная модель структуры хромосомы

Эти данные вместе с результатами молекулярно-биологических исследований (см. ниже) позволяют сформулировать интегральную модель хромосомы: она состоит из единственной двойной спирали ДНК, объединенной с гистонами в нуклеосомы. Некоторые районы этой двойной спирали представлены в основном повторяющимися последовательностями, высокоповторяющиеся копии спутанной ДНК могут быть рассеяны по геному. Участки, богатые повторяющимися последовательностями (в первую очередь в центромерной области и во вторичных перетяжках), обнаруживают признаки конститутивного гетерохроматина. Заметим, однако, что преобладающими в молекуле ДНК являются все-таки уникальные последовательности длиной в 2000 (и больше) нуклеотидных пар. Они рассеяны между мало и умеренно повторяю-



**Рис. 2.82.** Формирование паттерна хромосомной сегментации (G-сегменты) путем скручивания хроматидных нитей, которые состоят из слабоокрашенных (обогащенных эухроматином), а также из темных (гетерохроматиновых) областей. Обратите внимание, что число видимых G-сегментов уменьшается с увеличением плотности спирализации [201a].



щимися. При исследовании уникальных сегментов методами классической цитогенетики оказывается, что они обнаруживают свойства зухроматина и именно в них при определенных условиях выявляются петли большей или меньшей протяженности. Транскрибирующиеся последовательности ДНК (собственно «гены», см. разд. 2.3.5) локализованы преимущественно в этих уникальных районах, которые соответствуют светлым G-сегментам и темным R-сегментам. Особые последовательности, кодирующие рРНК, локализованы в районах ядрышкового организатора. Описанные структуры можно изучать детально в подходящих для этого клетках (например, в больших ооцитах амфибий). В этих же клетках можно наблюдать транскрипцию [440, 535].

### 2.3.2. Генетический код

Одним из важнейших достижений 60-х гг., ознаменовавшим возникновение новой генетики, было открытие генетического кода. Благодаря использованию синтетических триплектоидов удалось показать, что каж-

дая отдельная тройка детерминирует присоединение в процессе рибосомной «трансляции» только одной определенной аминокислоты. Вскоре были расшифрованы кодоны (3 нуклеотида, кодирующие аминокислоту) для всех аминокислот (табл. 2.12). Все аминокислоты, кроме триптофана и метионина, имели больше одного кодона, т.е. код оказался вырожденным. Нуклеотид в третьей позиции кодона не столь специфичен, как первые два, поэтому четыре кодона, которые отличаются только по третьему нуклеотиду, синонимичны и кодируют одну и ту же аминокислоту. Три кодона определяют сигнал терминации трансляции: в позиции, где стоят эти кодоны, трансляция прекращается. Кодон AUG для метионина определяет инициацию трансляции N-формилметионином и начало полипептидной цепи.

Генетический код универсален и одинаково эффективен у весьма отдаленных друг от друга организмов, таких, как вирус и человек. Это впечатляющее доказательство единства жизни на Земле. Все мутации в гемоглобинах человека (разд. 4.3) подчиняются правилам кодирования, действующим

Таблица 2.12. Генетический код

		Второе основание			
ДНК		A	G	T	C
мРНК		U	C	A	G
Первое основание	A	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA } TERM UAG }	UGU } Cys UGC } UGA } TERM* UGG } Trp
	G	CUU } CUC } CUA } Leu CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }
	T	AUU } AUC } Ile AUA } AUG } Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }
	C	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }

TERM, терминатор (стоп-кодон)

и у низших организмов. В последние годы обнаружены некоторые исключения, касающиеся ДНК митохондрий, в которых триплет UGA не терминирует трансляцию, а кодирует триптофан.

### 2.3.3. Тонкая структура генов человека: «Новая генетика»

Казалось бы, что на рубеже 70-х гг. молекулярная биология достигла определенной степени завершенности: были установлены структура [1347] и механизмы репликации ДНК, провозглашена «центральная догма» экспрессии гена (транскрипция, трансляция), выяснены основные аспекты регуляции активности гена. В этот период главным объектом молекулярно-генетических исследований были микроорганизмы. Переход к эукариотам (включая человека) встретился с дополнительными проблемами и трудностями, и кроме того, существовавшие в то время методы не позволяли рассчитывать на получение принципиально новых результатов. Стремительный прогресс в развитии молекулярной генетики в начале 70-х гг. стал возможен благодаря появлению нового экспериментального инструмента – рестрикционных эндонуклеаз. Был открыт путь для широкомасштабного получения генных продуктов (физиологически значимых белков) и для генетического манипулирования с различными организмами. Наши знания о структуре и функции генетического материала у эукариот, включая человека, заметно пополнились. Новые, совершенно неожиданные факты, имеющие как теоретическое, так и практическое значение, были открыты в разных областях, таких, как действие гена, популяционная генетика, эволюция и генетическая консультация, включая пренатальную диагностику (разд. 4.3 и 9.1). Достигнутые успехи заставили ученых задуматься об этической стороне манипулирования с человеческим зародышем, об опасности возникновения возбудителей в процессе генно-инженерных исследований. Многие из этих вопросов были подняты самими учеными, активно работающими в данной области. В настоящее время большинство исследователей считает, что опасения, касающиеся

генной инженерии, не имеют достаточных оснований, но многие этические проблемы остаются нерешенными и продолжают возникать новые.

В прошлом генетика человека и медицинская генетика развивались как относительно независимые отрасли науки, теперь многие их разделы оказались вовлеченными в общее русло молекулярно-генетических исследований, и провести между ними грань – трудно. В рамках учебника невозможно описать в деталях все молекулярно-биологические методы, которые привели к столь внушительному прогрессу генетики человека, поэтому следует обратиться к более специальным источникам [366; 493; 60]. Однако принципы новых подходов должны быть понятны всем исследователям, даже тем, кто изучает эволюцию или генетику поведения. В следующем разделе в качестве примера описывается анализ  $\beta$ -глобинового генного кластера человека (разд. 4.3). Кроме методов, основанных на использовании рестрикционных ферментов, обсуждаются также методы гибридизации нуклеиновых кислот, секвенирования ДНК и сортировки хромосом при помощи цитофлуорометрии.

#### 2.3.3.1. Анализ гена человека

**$\beta$ -глобиновый ген.** Молекула гемоглобина, а также клинические и биохимические последствия ее изменений будут детально описаны в разделе 4.3. Гемоглобин взрослого человека  $HbA_1$  состоит из четырех полипептидных цепей – двух  $\alpha$  и двух  $\beta$ . И раньше было известно, что ген  $\beta$ -цепи тесно сцеплен с некоторыми другими генами гемоглобина, в частности с геном  $\gamma$ -цепи, входящей в состав фетального гемоглобина, и геном  $\delta$ -цепи гемоглобина  $HbA_2$ , в небольших количествах обнаруживаемого у взрослого человека.  $\beta$ -Глобиновый кластер генов в настоящее время полностью идентифицирован и проанализирован молекулярными методами. Каковы основные этапы этого анализа и какие при этом используются методы?

**Этапы анализа.** Анализ глобинового белка, входящего в состав гемоглобина (разд. 4.3.1

и 4.3.2), был завершён к началу 60-х г. Цепь  $\beta$  состоит из 146 аминокислот. Вся транскрибируемая часть этого гена должна содержать поэтому 438 нуклеотидов ( $3 \times 146 = 438$ ). Длина такой нуклеотидной цепочки равна 1500 Å. Этот маленький кусочек нужно идентифицировать в нити ДНК общей длиной 2 м. Чтобы оценить трудность такой задачи, представим себе эти величины в другом масштабе: в нити длиной 20 км необходимо отыскать кусочек размером в 1,5 мм. В идеале необходимо расшифровать весь  $\beta$ -глобиновый кластер генов. Чтобы получить полную характеристику структуры, экспериментальная стратегия должна соответствовать следующим условиям:

1) соответствующие фрагменты ДНК должны быть идентифицированы однозначно;

2) они должны быть выделены и накоплены в количестве, достаточном для биохимического анализа;

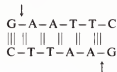
3) должна быть определена вся нуклеотидная последовательность. Принципы, на которых основаны эти три метода, кратко будут описаны ниже. Мы начнем с описания второго, поскольку прогресс в выделении и клонировании генов был решающим для развития новой генетики.

### 2.3.3.2. Рестрикционные эндонуклеазы

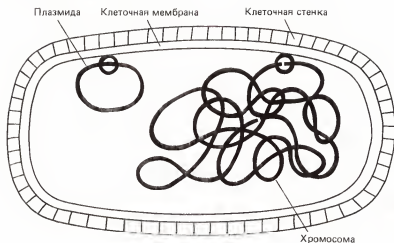
**Первые наблюдения.** Заражая фагом  $\lambda$  различные штаммы *E. coli*, Арбер [296] обнаружил, что ДНК этого фага при пассаже через бактерию разрезается и теряет свою инфекционность. Оказалось, что ни классические рекомбинационные процессы, ни мутации в этом не участвуют. Более того, такая судьба постигала не только фаговую, но и любую чужеродную ДНК, попадающую в бактерию. Такое разрезание (рестриктию) следует рассматривать как защитный механизм клетки. Как было показано в дальнейшем, рестрикция чужеродной ДНК осуществляется ферментами, называемыми рестрикционными эндонуклеазами (рестриктазами). Встает вопрос, почему рестриктазы не разрезают ДНК собственной клетки. Ответ был найден Арбером и состоял в следующем. Эти ферменты вступа-

ют в реакцию с определенными участками в ДНК, так называемыми сайтами узнавания, которые в клетке защищены метильными группами (метилированы). Правда, первые из открытых эндонуклеаз не были специфическими, а действовали случайным образом. Первой рестриктазой, которая расщепляла ДНК в строго определенном месте, была *Hind*, открытая Смитом в конце 60-х гг. [496]. Этот фермент впервые использован Натансом и соавт. для создания рестрикционной карты генома вируса  $SU_{40}$  [457]. Берг уловил особое свойство двухцепочечной ДНК формировать при обработке рестриктазами так называемые «липкие концы». После разрезания одна из цепей оказывается длиннее другой на несколько нуклеотидов. Эти нуклеотиды могут свободно спариваться с другими, например с комплементарными нуклеотидами другого фрагмента ДНК с липкими концами [299]. Благодаря этому ДНК из различных источников может объединяться, образуя рекомбинантные молекулы.

**Принципы технологии рекомбинантных ДНК** [2397; 60; 493]. Было выделено много рестриктаз (более 150), расщепляющих ДНК в специфических сайтах [117]. Например, эндонуклеаза *RI* рестриктирует двухцепочечную ДНК по двум сайтам таким образом, что образуются два липких конца:



Липкие концы различных молекул ДНК, расщепленных этим ферментом, могут вступать в комплементарное взаимодействие по четырем А—Т-парам. Рестрикционные эндонуклеазы различаются по тем сайтам в ДНК, которые они распознают и разрезают. Их можно использовать для различных целей. Однако наиболее распространенным этапом является их применение для амплификации специфической ДНК, что необходимо для определения нуклеотидных последовательностей фрагментов ДНК или для изучения механизмов



**Рис. 2.83.** Клетка *E.coli* с хромосомой и плазмидой [2327].

экспрессии генов. Последняя проблема наиболее важна в практическом аспекте: гены, контролирующие образование функционально активных белков, теперь можно вводить в бактерии и размножать (амплифицировать). Эта процедура называется клонированием генов. Благодаря ей появилась возможность нарабатывать в больших количествах белки, которые раньше удавалось получить ничтожно мало. Эта технология основана на следующем принципе: помимо своей собственной кольцевой хромосомы бактерии часто содержат дополнительные маленькие кольцевые молекулы двухцепочечной ДНК, называемые плазмидами. Плазмиды реплицируются автономно и сами могут содержать гены, определяющие устойчивость бактерий к антибиотикам и/или контролирующие синтез веществ, например, колицинов, убивающих другие бактерии (рис. 2.83). Плазмидную ДНК можно выделить и расщепить подходящей рестриктазой только в одном сайте, превратив кольцевую молекулу в линейную с липкими концами. Фрагменты любой чужеродной ДНК с такими же липкими концами (полученными после разрезания аналогичной рестриктазой) можно сшить с плазмидной ДНК с помощью лигазы.

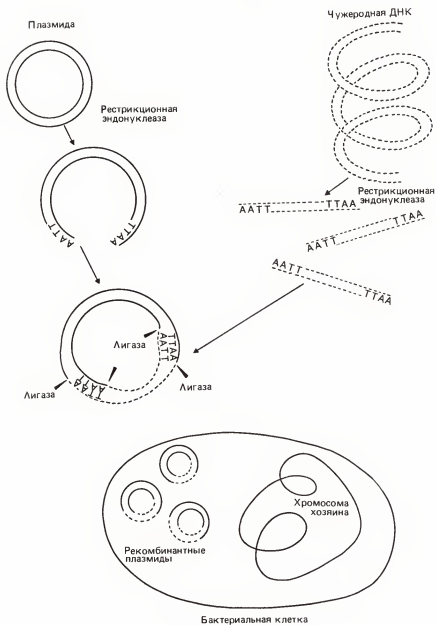
Рекombинантную конструкцию вводят затем в бактерию, где она реплицируется (рис. 2.84). Источник экзогенной ДНК не имеет значения. ДНК может быть полу-

чена, например, из клеток человека, но можно спивать и искусственно синтезированные гены. Кроме бактериальных плазмид в качестве векторов (носителей) ДНК используют фаги  $\lambda$  (объект исследований Арбера). Часть генома этого фага не обязательна для его размножения в бактерии. Вместо него можно ввести чужеродную ДНК, которая будет размножаться вместе с фаговой после инфицирования бактерий.

Добиться репликации и амплификации в составе плазмидной (или фаговой) ДНК после трансформации (или соответственно трансфекции) бактериальной клетки еще не значит решить все проблемы. Прежде всего возникают два вопроса:

1. Как распознать клоны, содержащие гибридную ДНК, среди потомства трансформированных клеток или живых бактериофагов?
2. Как идентифицировать необходимые фрагменты ДНК среди многих клонированных неизвестных фрагментов?

Например, можно отбирать бактериальные клетки, если они несут плазмиду с фактором устойчивости к антибиотику, выращивая их на среде, содержащей этот антибиотик. Нетрансформированные клетки без плазмид (и, следовательно, без гена устойчивости к антибиотику) просто не будут расти на такой среде. В последние годы разработано много специальных методов селекции, которые позволяют отби-



**Рис. 2.84.** Принцип введения чужеродной ДНК в бактериальную плазмиду с использованием эндонуклеазы RI [2397].

вать только рекомбинантные клетки, но мы пока не будем их здесь подробно описывать.

Для генной инженерии белков недостаточно отобрать и размножить определенные фрагменты ДНК, необходимо еще индуцировать их экспрессию в клетке. Для этого необходимо «подключить» рекомбинантную молекулу к «машине», которая обеспечивает транскрипцию ДНК, последующую трансляцию матричной РНК и процессинг как на транскрипционном, так и на трансляционных уровнях.

**Идентификация и анализ генов.** Еще одна область применения рестриктаз – идентификация и определение числа генов [332]. Эти задачи решаются с помощью метода, разработанного Саузерном (1975; [492]).

Тотальную ДНК из клеток человека гидролизуют эндонуклеазой примерно на 500 000 фрагментов длиной от  $10^2$  до  $10^5$  нуклеотидных пар. Затем фрагменты разделяют по молекулярной массе с помощью гель-электрофореза в агарозе, после чего ДНК денатурируют щелочью прямо в геле, чтобы получить одноцепочечные фрагменты. Их переносят на нитроцеллюлозный фильтр и фиксируют высушиванием при  $80^\circ\text{C}$ . В результате получается отпечаток (реплика) картины разделения фрагментов ДНК по их размеру. Эти фрагменты можно идентифицировать методом гибридизации с радиоактивными ДНК-зондами, специфичными для определенных генов или хромосом. Любой фрагмент, содержащий всю последовательность зондируемого гена или его часть, будет выглядеть на радиоавтографе в виде темной полосы (рис. 4.60).

**Зонды и генные библиотеки.** Главное условие такого анализа – наличие подходящего геноспецифического радиоактивного ДНК-зонда, который можно использовать для гибридизации (табл. 2.13). В тех случаях, когда имеется в распоряжении матричная РНК, например для  $\beta$ -глобина, специфический зонд можно получить при помощи фермента обратной транскриптазы. Этот фермент катализирует считывание нуклеотидной последовательности мРНК в комплементарную последовательность ДНК,

**Таблица 2.13.** ДНК-зонды, имеющие потенциальное значение для медицины (см. также [328a])

#### *Геноспецифические*

Кластер глобинового гена ( $\alpha$ )  
 Кластер глобинового гена ( $\gamma$ - $\delta$ - $\beta$ )  
 Гормон роста  
 $\alpha$ -антитрипсин  
 Фенилаланин-гидроксилаза (ФКУ)  
 Локус HGPRT (синдром Леш-Найхана)  
 Пресальбумин (амилоидоз)  
 Инсулин  
 Гены иммуноглобулинов  
 Соматомаммотропин  
 Коллаген  
 G6PD  
 Гены HLA  
 Фактор свертывания VIII (гемофилия А)  
 Фактор свертывания IX (гемофилия В)  
 Фактор свертывания VII  
 Антитромбин 3  
 Рецепторы LDL (семейная гиперхолестеринемия)  
 Аполипопротеин AI  
 Аполипопротеин AII  
 Аполипопротеин B  
 Аполипопротеин CI  
 Аполипопротеин CII  
 Аполипопротеин E  
 HMG-Co A-редуктаза

#### *Неспецифические*

Доступны почти для всех хромосом, включая хромосомы X и Y. Имеются зонды и для сегментов хромосом, количество таких зондов возрастает

так называемую кДНК (сама мРНК для гибридизации обычно не используется, поскольку трудно получить ее препараты с достаточно высокой радиоактивной меткой). Для создания *библиотеки кДНК* может быть использована мРНК из разных источников. Такие библиотеки содержат в основном уникальные нуклеотидные последовательности активно транскрибирующихся структурных генов или их частей, а также последовательности ДНК из их ближайшего окружения. Эти библиотеки используют в основном для обнаружения и характеристики таких генов. Находят свое применение и *геномные библиотеки*. Их получают путем фрагментирования ДНК рестрикционными эндонуклеазами и последующего клонирования отдельных рестриктов в векторах. Такие библиотеки удобно использовать, например, для обнаружения

в геноме комплементарных участков. Нередко в пределах определенной последовательности ДНК обнаруживается *рестрикционный полиморфизм*. Это значит, что сайты рестрикции могут варьировать у разных индивидов (разд. 2.3.2.7). В таких случаях зонды можно использовать для классических исследований сцепления в семьях с помощью методов, описанных в разд. 3.4.2.

Работа с геномной библиотекой весьма трудоемка, учитывая размеры генома человека и количество фрагментов, из которых необходимо отобрать один-единственный, «интересующий» исследователя. Для решения многих вопросов предпочтительнее располагать *хромосомо-специфической* библиотекой. Её создание требует выделения отдельных хромосом. В настоящее время это стало возможным благодаря сортировке хромосом цитофлуорометрическим методом (разд. 2.3.2.5). Для синтеза кДНК используется также такое мощное средство, как синтетические олигонуклеотиды, особенно в тех случаях, когда мРНК недоступна [390; 476; 527; 539]. Зная генетический код, можно сконструировать, например, кДНК структурного гена определенного белка, аминокислотная последовательность которого известна. В настоящее время существуют автоматические устройства для синтеза любых нуклеотидных последовательностей желаемой длины.

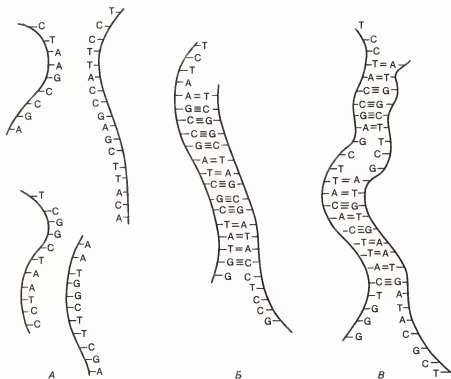
Если ген идентифицирован и особенно если доступен его первичный продукт в виде мРНК, то анализ тонкой структуры гена можно осуществить на основе комплекса методов, часть из которых описана ниже более детально. Конечной целью таких исследований являются расшифровка полной нуклеотидной последовательности определенного генетического района и установление присущих конкретным группам нуклеотидов специфических функций в транскрипции и ее контроле.

### 2.3.3.3. Гибридизация нуклеиновых кислот

**Принцип.** В разд. 2.3.1.1 мы уже упоминали метод идентификации ДНК-повторов, основанный на разделении двойных цепей при повышении температуры и их реассо-

циации при быстром снижении температуры. Таким образом, в этом методе используется способность комплементарных цепей нуклеиновых кислот гибридизоваться одна с другой и образовывать двойную спираль. То же свойство используется для идентификации разделенных гель-электрофорезом фрагментов ДНК в методе Саузерна (Southern blotting, разд. 2.3.2.2). Способность к гибридизации цепей ДНК лежит в основе многих методических приемов молекулярной биологии, поэтому более подробное описание принципа гибридизации будет полезным. Большинство природных ДНК встречается в виде двухцепочечных молекул. Их устойчивость поддерживается благодаря тому, что пиримидиновое основание цитозин (С) спаривается с пуриновым основанием гуанином (G), в то время как пиримидиновое основание тимин (Т) спаривается с пуриновым основанием аденином (А). Эти комплементарные пары оснований удерживаются водородными связями (три в паре G–С и двумя в паре А–Т), которые относительно легко разрываются, но и быстро восстанавливаются, при этом одноцепочечные фрагменты ДНК, присутствующие в растворе, снова формируют двойную спираль. Для реассоциации не имеет значения происхождение одноцепочечной ДНК, не требуется даже полной комплементарности отдельных цепей. Реассоциация происходит даже тогда, когда какая-то часть оснований в каждой цепи не комплементарна (рис. 2.85). Одноцепочечная ДНК может спариваться (гибридизоваться) даже с РНК, если у них есть комплементарные основания.

*«Прогулка по хромосоме».* Метод гибридизации полезно использовать, например, для анализа очень протяженного гена. При этом с помощью подходящего зонда из геномной библиотеки ДНК извлекается первоначально какая-то часть такого гена. Нуклеотидная последовательность этой части гена будет, как правило, длиннее зонда, и ее концы будут перекрываться с другими фрагментами данного гена в этой библиотеке, т. е. будут по крайней мере частично гибридизоваться с ними. Свободные концы этих фрагментов будут гибридизоваться со следующими и т. д., пока весь структурный ген не будет полностью идентифицирован серией перекрываю-



**Рис. 2.85.** Принцип ДНК или РНК гибридизации. *А.* Нуклеотидные цепи в растворе. *Б.* Гибридизация цепей в соответствии с правилами спаривания: тимин образует пару с аденином, цитозин с

гуанином. *В.* Гибридизация может происходить даже при неполной гомологии, важно, чтобы различия не были слишком велики.

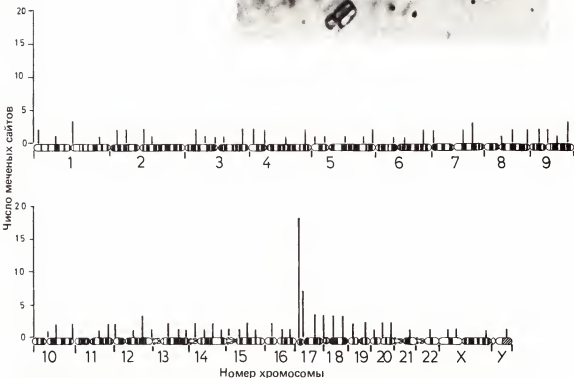
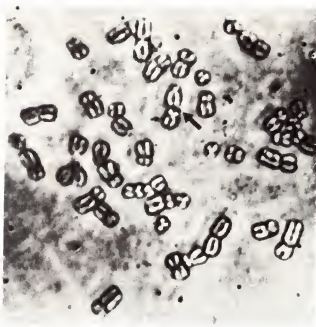
шихся фрагментов. Именно таким образом был реконструирован структурный ген фактора свертывания крови VIII человека, необычно длинный, состоящий из 180 000 пар нуклеотидов. Реконструкцию начинали с олигонуклеотидного зонда длиной всего в 36 нуклеотидов. Описанный ранее метод, когда сначала выделяется специфическая мРНК, а затем с помощью обратной транскриптазы на ней синтезируется кДНК, в данном случае оказался непригоден из-за низкой концентрации мРНК. Олигонуклеотидный зонд был синтезирован на основе аминокислотной последовательности фрагмента белка фактора VIII, и ее комплементарность оказалась достаточной для эффективной гибридизации. Полный анализ гена фактора VIII описан в разд. 2.3.7.

**Гибридизация *in situ*.** Метод гибридизации *in situ* особенно удобен для анализа эукариотических геномов методами молекуляр-

ной цитогенетики. Препарат метафазных хромосом обрабатывают радиоактивным ДНК-зондом в условиях, позволяющих этому зонду гибридизоваться с хромосомной ДНК. Таким образом исследуемый ген можно локализовать в специфическом хромосомном сегменте. На первых этапах применение этого метода ограничивалось идентификацией в хромосомах только высокоповторяющихся нуклеотидных последовательностей, в частности сателлитной ДНК. Но даже только эти данные позволили сделать важные выводы относительно эволюции человека (разд. 7.2.2). Позже метод гибридизации *in situ* был усовершенствован настолько, что теперь с его помощью можно локализовать в хромосомах даже уникальные гены, такие, например, как ген



**Рис. 2.86.** Гибридизация *in situ* гена тяжелой цепи миозина. Фотография в фазовом контрасте метафазы после гибридизации с  $^3\text{H}$ -меченным кДНК-зондом и экспонирования в радиоавтографической эмульсии в течение 20 дней. Стрелка указывает на зерно серебра в теломерном участке короткого плеча хромосомы 17. (По [482].)



**Рис. 2.87.** Распределение зерен серебра в 36 метафазах после гибридизации с кДНК-зондом тяжелой цепи миозина. Гистограмма построена по результатам анализа, основанного на разделении гаплоидного кариотипа человека на 110 равных

отрезков (хромосомы изображены как одна квазинепрерывная последовательность). Число меченых участков указано для каждого сегмента. Обнаружен кластер зерен в коротком плече хромосомы 17. (По [482].)

**Таблица 2.14.** Некоторые гены человека, идентифицированные с помощью гибридизации

Ген, длина последовательности ДНК и число копий	Локализация
β-глобин (4400 п. н.)	11p
α-глобин (800 п. н.)	16p
Инсулин (900 п. н.)	11p15
LGH (550 п. н.)	17q22-24
Генный кластер плацентарного лактогенного гормона роста	
Интерферон	9p2,1-pter
IFNα + β, IFNγ	12q24,1
Онкоген c-myc (2750 п. н.)	8q24
Онкоген c-mos (2750 п. н.)	8q22
Ig (6600 п. н.)	14q32
Гены тяжелых цепей (γ4) (много)	
Ig Каппа (10500 п. н.)	2p12
Гены легких цепей (VK) (50)	
Онкоген myb (2000 п. н.)	6q22-24
Онкоген fes (4000 п. н.)	15q24-gter
α-фетопrotein (380 п. н.)	4q11-22
Сывороточный альбумин (1600 п. н.)	4q11-22
Онкоген c-myc (-)	8q
Онкоген c-abl (1100 + 600 п. н.)	9q3,4
RFLP (ПДРФ) (500 н. н.)	14q31,2-3,2
D14S1	
IgC лямбда (203 п. н.) (семейство генов)	22q11
Онкоген N-ras (4000 п. н.)	1cen-p21
Миозин MHC (2200 п. н.)	17p1,2-pter
(?)	
Коллаген (COL 1A2)	7q22
(?)	
Онкоген gas (mil) (2500 п. н.)	3p25
(?)	

инсулина [377] гл. 3). Для этого используют статистический анализ распределения радиоактивной метки по длине отдельных хромосом во многих метафазных препаратах.

В качестве примера рассмотрим теперь основные этапы анализа гена тяжелой цепи миозина [482]. Вначале был получен кДНК-зонд для гена тяжелой цепи миозина кролика. Поскольку гомологичные гены различных млекопитающих в общем сходны, их гибридизация проходит без затруднений. Зонд клонировали в плазмиде и

выделенную затем ДНК метили тритием (<sup>3</sup>H) с помощью *ник-трансляции* (nick translation). Для этого ДНК инкубировали с небольшим количеством ДНКазы-1, которая вносит несколько одноцепочечных разрывов в двухцепочечную ДНК. Затем добавляли радиоактивно меченные нуклеотиды и ДНК-полимеразу, при этом меченые нуклеотиды встраивались в ДНК-зонд.

Препараты митотических хромосом получали из культуры лимфоцитов, подвергали специальной обработке с целью денатурации хромосомной ДНК и затем проводили гибридизацию с меченным тритием ДНК-зондом в течение 16–18 ч при 40°C.

После отмывания препаратов с целью удаления несвязавшейся или неспецифически адсорбированной ДНК их экспонировали в течение 3 недель для получения радиоавтографов. После окрашивания акрихин-ипритом (Q-метод) препараты сфотографировали. На рис. 2.86 показана типичная метафазная пластинка, а на рис. 2.87 – распределение метки по отдельным сегментам всех хромосом человека. Как видно, основная масса метки обнаруживается на коротком плече хромосомы 17 в сегменте 17p1,2 → pter. На основании этого был сделан вывод, что ген тяжелой цепи миозина расположен в хромосоме 17. Поскольку данный эксперимент был проведен с зондом кДНК, мы не вправе утверждать, что идентифицированный миозиновый ген является действительно активным. Он может быть и «псевдогеном», т.е. такой последовательностью ДНК, которая структурно гомологична активному гену миозина, но сама не транскрибируется, т.е. не детерминирует синтез миозина, поскольку лишена каких-то важных фланкирующих последовательностей вне транскрибируемой части. Такие псевдогены были обнаружены, например, в пределах кластеров α- и β-глобиновых генов (разд. 4.3). Все большее число генов человека успешно локализуется в хромосомах с помощью этого метода (разд. 3.4, табл. 2.14)

#### 2.3.3.4. Секвенирование ДНК [117; 122; 381]

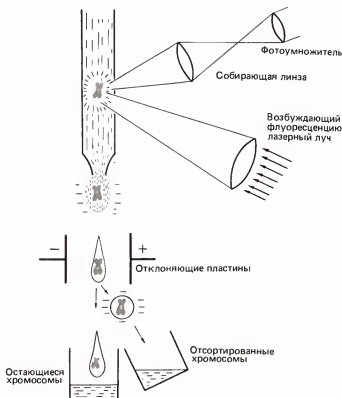
*Последовательность нуклеотидов и генетический код.* Методы определения последовательности аминокислот в полипептидной цепи были известны еще в 50-х гг. Теоретически это относительно легкая проблема, поскольку все 20 аминокислот, встречающиеся в природных белках, имеют разные свойства. С другой стороны, нуклеотидная последовательность ДНК относительно однородна по составу элементарных звеньев, так как содержит только четыре типа азотистых оснований—гуанин, цитозин, аденин и тимин. Когда еще в 60-х г. был расшифрован генетический код, появилась возможность восстанавливать (дедупировать) нуклеотидную последовательность транскрибируемой ДНК по аминокислотной последовательности соответствующего белка. Однако генетический код является вырожденным, то есть одной и той же аминокислоте соответствуют несколько разных нуклеотидных триплетов. Следовательно, суждения о нуклеотидной последовательности, основанные на последовательности аминокислот в белке, не однозначны. Кроме того, последовательности аминокислот не содержат никакой информации о последовательности некодирующих участков ДНК. В настоящее время разработаны методы непосредственного секвенирования ДНК [117]. Принцип состоит в следующем: длинную молекулу ДНК фрагментируют при помощи агентов, расщепляющих ее в специфических сайтах. Затем определяют последовательность нуклеотидов в каждом из этих фрагментов. Очередность фрагментов в целой молекуле восстанавливают, используя перекрывающиеся концы: идентичные цепи разрезают повторно другой рестриктазой, а затем последовательности перекрывающихся фрагментов, образующихся при обработке двумя рестриктазами разной специфичности, сравнивают. Так может быть реконструирована полная последовательность. В пределах отдельных фрагментов порядок нуклеотидов определяют с помощью специальных методов. Раньше секвенирование ДНК было весьма трудным делом, теперь же оно

осуществляется довольно легко и быстро. Для этого необходимо длинную молекулу ДНК с помощью рестриктазы разделить на фрагменты удобного размера, а затем, если нужно, размножить их путем клонирования (разд. 2.3.2.2). В настоящее время секвенируют очень длинные молекулы ДНК. Например, определены уже последовательности всей митохондриальной ДНК человека (разд. 2.3.5) и семейства  $\beta$ -глобиновых генов (разд. 4.3). С помощью секвенирования ДНК можно получить более точные сведения и о нетранскрибируемых участках ДНК, важных для контроля транскрипции (так называемые операторы и промоторы).

#### 2.3.3.5. Сортировка хромосом при помощи цитофлуорометрии

*Зачем нужны сортировка хромосом и препараты отдельных хромосом?* Сортировка хромосом методом цитофлуорометрии используется в двух разных целях: 1) для идентификации и количественного анализа рисунка флуоресценции большого числа хромосом в течение очень короткого времени; 2) для preparативного разделения хромосом. Этот метод имеет два преимущества перед стандартными методами анализа хромосом: он автоматический, благодаря чему исключается элемент субъективности, и он намного быстрее. Например, некоторые хромосомные aberrации настолько малы, что их невозможно обнаружить обычными методами, но при определенных условиях они идентифицируются с помощью цитофлуорометрии.

Однако важнее, что этот метод позволяет препаративно разделять хромосомы, и при наличии специфических зондов исследовать структуру и функцию отдельных генов становится относительно просто. В этом случае ген можно локализовать в хромосоме с помощью гибридизации *in situ*, размножить его ДНК путем клонирования и секвенировать. Можно исследовать таким же образом и генетический материал некодирующих участков гена. Основой для такого рода исследований являются геномные библиотеки ДНК. Однако их неудобство состоит в том, что обычно трудно или невозможно отобрать из огромного количества фрагментов интересные нас последовательности. Кроме того, изучение распределения ДНК по различным хромосомам нередко само по себе является важным предметом исследования. Для такого рода работ необходимы библиотеки ДНК отдельных хромосом или даже их отдельных фрагментов.



**Рис. 2.88.** Принцип сортировки хромосом с помощью лазера. Хромосомы окрашены флуоресцирующим красителем. Флуоресценция возбуждается лазерным лучом и измеряется для каждой хромосомы отдельно. Данные измерений используют для сортировки хромосом. (Courtesy of Dr.C. Gremer.)

**Физический принцип** [364] ставится яснее из рис. 2.88. На нем изображена одноручевая система, но используют также и двулучевые системы, в которых применяются два разных пучка света. Для анализа с помощью двулучевой системы хромосомы окрашивают двумя красителями с максимумом флуоресценции при разных длинах волн. Затем митотические хромосомы отделяют от остального клеточного материала и помещают в систему. Их «прогоняют» одну за другой через заполненную водой измерительную часть устройства, где они последовательно освещаются двумя лазерными пучками (например, одним ультрафиолетовым, а другим – видимым светом с длиной волны 459 нм). Два типа флуоресценции, возникающей в точке пересечения потока хромосом и лазерного пучка, собираются линзой и проецируются на отдельные фотоумножители, благодаря чему можно построить двумерное изображение (рис. 2.89) по двум одномерным для каждого красителя и длины волны. В опыте, представленном на рис. 2.89, были подобраны два таких красителя: один из них окрашивал районы, представленные в основном А—Т-па-

рами, а другой – районы с преимущественным содержанием G—C-пар. Система может включать приспособление, которое позволяет менять направление потока хромосом в зависимости от рисунка флуоресценции. С помощью такого метода получают относительно чистые препараты отдельных групп морфологически сходных хромосом и даже отдельных хромосом.

**Сортировка X- и Y-хромосом.** В работе [333, 330] осуществлена препаративная проточная цитометрия X- и Y-хромосом человека. X-хромосома была выделена из клеточной линии с кариотипом 48,XXXX с помощью одноручевой сортировки. Этот материал был использован для приготовления библиотеки хромосомной ДНК после обработки рестриктазой *EcoRI* и клонирования в фage  $\lambda$  (см. разд. 2.3.2.2). Y-хромосома отобрана с помощью двулучевого сортиera из материала гибридной клеточной линии «китайский хомячок × человек». Получение клеточных гибридов будет описано в разд. 3.4.3 в связи с локализацией генов в хромосомах. Важная особенность гибридных клеток человек × мышь или

человек × хомячок состоит в том, что при их размножении утрачиваются преимущественно хромосомы человека. Таким путем была получена клеточная линия, которая имела полный набор хромосом хомячка и только Y-хромосому человека. Поскольку все хромосомы хомячка отличаются от хромосомы человека в большей степени, чем сами хромосомы человека между собой, такие клеточные гибриды особенно под-

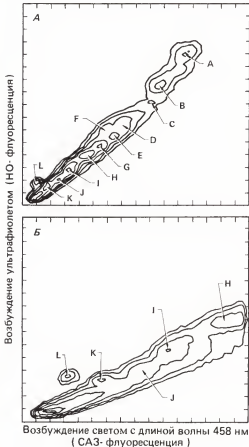
ходят для сортировки. На рис. 2.89 показаны пики на двумерной картине: хромосома, помеченная буквой L — это Y-хромосома человека. Она отделена от остальных настолько четко, что из этого материала можно получить библиотеку ДНК этой хромосомы.

### 2.3.3.6. Анализ β-глобинового гена и обобщение опыта исследования одного гена.

**β-глобиновый ген.** Разд. 2.3.2.1 начинался с анализа структуры β-глобинового гена, которая была раскрыта благодаря использованию новых методов и подходов. Наиболее важные из них описаны в предыдущем разделе, однако теперь мы снова вернемся к анализу данного гена.

Как уже говорилась, первым этапом является идентификация этого гена в необозримом «море» человеческой ДНК. Для этого ее выделяют из клеток, затем рестрицируют. Образовавшиеся фрагменты разделяют по длине с помощью агарозного гель-электрофореза. Фракционированные фрагменты денатурируют и переносят на нитроцеллюлозные фильтры методом блоттинга (промакивания) по Саузерну, в результате чего на фильтре ДНК представлена уже в одноцепочечной форме и фиксирована. Следующий шаг состоит в идентификации фрагмента ДНК, содержащего β-глобиновый ген. Для этого необходим радиоактивный ДНК-зонд, который синтезируется на β-глобиновой мРНК с помощью обратной транскриптазы (мРНК → кДНК). Этот кДНК-зонд можно использовать теперь для гибридизации с геномной ДНК прямо на фильтре. Радиоавтография позволяет обнаружить фрагменты, содержащие β-глобиновый ген.

Данный метод пригоден и для локализации β-глобинового гена с помощью гибридизации *in situ*, как описано в разд. 2.3.2.3 на примере гена тяжелой цепи миозина. Ген Hbβ был локализован таким способом в коротком плече хромосомы 11 (11p; см. разд. 4.3). Для более подробной характеристики β-глобинового гена необходимо получить большое количество его ДНК, что достигается с помощью клонирования кДНК в каком-нибудь векторе, например в



**Рис. 2.89.** Контурный график (интенсивность флуоресценции) двумерной лазерной сортировки хромосом из гибридных клеток «китайский хомячок × человек», в которых осталась только человеческая Y-хромосома. Буквы А–К относятся к разным хромосомам хомячка; буква L указывает на Y-хромосому человека. А. Все хромосомы; Б. Только маленькие хромосомы. (По [330].)

бактериальной плазмиде (см. разд. 2.3.2.2). Анализ семейства  $\beta$ -глобиновых генов проводили, сравнивая последовательности геномной ДНК в транскрибируемой области с кДНК методами электронной микроскопии; по данным секвенирования геномной ДНК внутри и вне транскрибируемых последовательностей; с помощью идентификации сигнальных последовательностей. Первый и наиболее впечатляющий результат состоял в обнаружении с помощью электронной микроскопии того факта, что геномная  $\beta$ -глобиновая ДНК и кДНК не совпадают по длине и при гибридизации образуют характерные петли [1329]. Последние формируются за счет тех участков геномной ДНК, которые отсутствуют в кДНК и, следовательно, не транскрибируются, поскольку кДНК является точной копией мРНК. В гене  $Hb\beta$  были выявлены две такие вставочные последовательности (*интроны*), которые разделяют три разные кодирующие области (*экзоны*). Исследования, проведенные на многих других эукариотических генах, показали, что наличие интронов является скорее правилом, чем исключением. Этим гены эукариот существенно отличаются от бактериальных и вирусных генов, у которых транскрипция по всей длине одного гена не прерывается. Часто экзоны представляют собой функциональные субъединицы гена. Они могут возникать в ходе эволюции (разд. 7.2.3) как результат объединения нескольких самостоятельных генов.

Эти и более поздние исследования подтвердили выводы, сделанные на основании семейных данных об аномальных гемоглобинах (разд. 4.3.2), согласно которым имеется только один функциональный ген  $Hb\beta$ , тогда как, например, гены  $\alpha$  и  $\gamma$ -глобинов дуплицированы. Однако молекулярные исследования позволили выявить еще и псевдогены, они сходны с последовательностями ДНК функциональных генов, но не транскрибируются вследствие мутаций в кодирующих или фланкирующих участках. На рис. 4.44 показана область  $Hb\beta$ . Кроме этого гена и его псевдогена имеются два  $\gamma$ -гена, один  $\delta$ -ген (для  $\delta$ -полипептидной цепи, входящей в состав  $HbA_2$ ) и гены ранних эмбриональных глобинов. Молеку-

лярный анализ подтвердил выводы относительно структуры этой геновой области, полученные на основании формально-генетического анализа и биохимии гемоглобинов (разд. 4.3), но одновременно дал много совершенно новой информации о структуре и функциональной организации эукариотических генов как таковых.

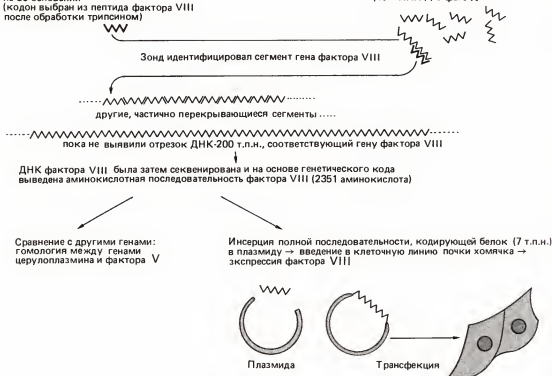
Специальные исследования помогли ответить и на вопрос о том, как происходит транскрипция и как образуется зрелая мРНК (рис. 2.90). Выяснилось, что сначала транскрибируется весь ген, включая интроны и фланкирующие последовательности, расположенные дистальнее кодирующей области. Затем участки транскрипта, соответствующие интронам, вырезаются, 5'-конец «эпируется» (блокируется 5-метилцитозинном), а 3'-конец защищается *poly A*-последовательностью. Наконец, мРНК, претерпевшая такой процессинг (созревание), покидает ядро, переходит в рибосомы и используется как матрица для биосинтеза белка. Сейчас известны последовательности ДНК различных глобиновых генов. Изучение этих генов позволило решить много общих проблем, касающихся организации и экспрессии генетического материала в клетке. Вопросы, связанные с полиморфизмом глобиновых генов на генетическом, клиническом, белковом уровнях и на уровне ДНК, рассматриваются в разд. 4.3. Ряд аспектов мутационного про-

**Рис. 2.90.** Единичная нуклеотидная цепь ДНК с характерной специфической последовательностью оснований. На 5'-конце, где начинается транскрипция, обозначены два характерных участка: СААТ и ТАТА (80 и 30 п.н.). По аналогии с бактериальным геномом предполагают, что последовательность СААТ служит сайтом узнавания для РНК-полимеразы, а участок ТАТА является промоторным для индуцируемой полимеразой транскрипции. ДНК транскрибируется в комплементарную последовательность РНК, включая интроны. Затем РНК подвергается процессингу, интроны удаляются, 5'-конец «эпируется», а 3'-конец закрывается последовательностью *poly A*. После этого созревшая мРНК проходит через ядерную мембрану и прикрепляется к рибосоме, где генетическая информация транслируется в белковую последовательность.



Уникальный олигонуклеотидный зонд из 36 оснований (кодон выбран из пептида фактора VIII после обработки трипсином)

Библиотека генома человека (49 XXXXY) в фage  $\lambda$



**Рис. 2.91.** Анализ гена фактора VIII человека, начинающийся с получения олигонуклеотидного зонда длиной в 36 оснований.

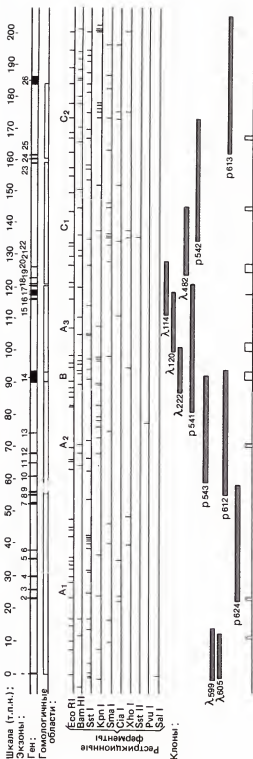
ции и обогащения фракции мРНК фактора VIII с помощью клеточной линии Т-гибридомы. Обогащенная фракция мРНК была нужна для получения кДНК всей кодирующей части гена (9 т.п.н.), которую затем секвенировали (разд. 2.3.2.4). Сравнивая кДНК с геномной ДНК, установили границы экзонов. Оказалось, что полный ген состоит из 186 000 пар нуклеотидов. В нем было обнаружено 26 экзонов длиной от 69 до 3 106 п.н., один из интронов имел длину в 32,4 т.п.н. Белок фактора VIII состоит из 2351 аминокислоты (рис. 2.92).

Чтобы добиться экспрессии гена в клетках млекопитающих, его кодирующую часть (~7 т.п.н.) «спилили» с частью перекрывающейся ДНК и встроили в плазмиду между промоторами и polyA-последовательностью вирусного происхождения. По-

лученную рекомбинантную конструкцию с помощью метода кальций-фосфатной преципитации ввели в клетки хомячка. Для выявления экспрессии гена использовали моноклональные антитела к части белка фактора VIII. В опытных клетках по сравнению с контрольными было обнаружено 300-кратное увеличение количества перекрестно-реагирующего материала.

**Рис. 2.92.** Ген фактора VIII. Открытая полоса: ген, внутри полосы закрашены 26 экзонов. Нижний ряд линий: расположение сайтов узнавания 10 рестрикционных эндонуклеаз, использованных для идентификации. Серые прямоугольники представляют длину ДНК человека, содержащейся в каждом клоне космиды (p) и  $\lambda$ -фага (По Gitshier et al., Nature 312, p. 327, 1984.)





Важно отметить, что группа из Института генетики, работавшая в том же направлении, получила аналогичные результаты.

*Значение этих исследований.* В работах, суть которых мы изложили здесь весьма кратко и упрощенно, для анализа необычно сложного гена авторы изобретательно использовали многие методы молекулярной биологии. Их результаты важны по нескольким причинам.

1. Впервые был проанализирован ген такой длины и сложности у человека (да и вообще у эукариот). Весьма вероятно, что многие другие гены, кодирующие длинные и сложные белки, имеют такую же длину и структуру.

2. Результаты структурного анализа позволяют сделать новые выводы относительно эволюции этого гена [361], учитывая неожиданную гомологию (примерно на 35%) аминокислотной последовательности белка фактора VIII с церулоплазмином (белком, связывающим медь) (см. раздел 7.2.3).

3. Есть основание надеяться, что благодаря генной инженерии лечение гемофилии А станет более безопасным и дешевым. Заместительная терапия препаратами фактора VIII представляет собой один из примеров успешной корректировки наследственного дефекта: продолжительность жизни больных гемофилией резко увеличилась, и многие из них ведут почти нормальный образ жизни. Однако это лечение не свободно от серьезных недостатков. Во-первых, оно очень дорого, поскольку фактор VIII получают из крови человека. Во-вторых, возникает серьезная опасность заразиться гепатитом или вирусом СПИД [314]. В настоящее время, чтобы избежать инфекции, препараты фактора VIII подвергают тщательному вирусологическому скринингу и прогревают. Мы полагаем, что пройдет несколько лет, прежде чем будет получен безопасный, эффективный и клинически испытанный препарат фактора VIII. Впрочем, это может случиться и к моменту выхода в свет нашей книги.

*Экспурс в социологию науки.* Анализ гена, о котором шла речь, был проведен двумя очень большими группами, о чем свидетельствует список авторов каждой статьи. Массированное наступление «большой науки» до недавнего времени было более типично для некоторых отраслей физики, например физики высоких энергий. Необходимость такого подхода теперь осознана и молекулярными биологами [428], однако здесь все чаще «батальоны» формируются не университетами или исследовательскими группами, а частными компаниями, поставившими перед собой конечную цель — получить продукт, пользующийся спросом. Должно ли такое развитие стать предметом серьезной озабоченности? Существует ли опасность, что коммерческие интересы слишком сильно будут влиять на развитие науки, отвлекая силы и ресурсы от научно значимых проблем и привлекая их к другим, которые сулят немедленные прибыли? Мы полагаем, что опасность не так велика. Тесные связи между фундаментальными исследованиями и промышленным использованием результатов характерны для техники и для химии. Насколько мы знаем, это не снижает качество фундаментальных исследований в этих областях науки. Для биологов, однако, эта ситуация является новой и потому требует тщательного анализа.

### 2.3.3.8. Семейства генов

*Примеры семейства генов.* Под семейством генов мы понимаем группу функционально родственных генов, имеющих сходную структуру и общее происхождение. Ярким примером генного семейства являются две глобиновые области ( $\alpha$ - и  $\beta$ -глобиновые гены). Другое семейство генов включает, например, иммуноглобулиновые гены (разд. 7.4); гены рибосомной РНК (разд. 2.3.1.1); компоненты главного комплекса гистосовместимости (МНС) (разд. 3.5.5, см. также [307]). По-видимому, не существует общего правила в расположении семейств генов на хромосомах. Некоторые из них образуют кластеры, обнаруживая тесное сцепление (причем неравновесие по

сцеплению может быть существенным, а может и отсутствовать). Семейство глобиновых генов формирует два кластера: Hb $\alpha$  на хромосоме 16 и Hb $\beta$  на хромосоме 11. Другие семейства генов, такие, например, как гены мышечных белков, рассеяны по многим различным хромосомам.

*Гены актина и миозина.* Биологическая функция мышц состоит в осуществлении механической работы путем сокращения. Проблема трансформации химической энергии в механическую была решена природой путем создания крайне длинных, многоядерных клеток, большая часть которых занята сократительными элементами — миофибриллами, расположенными параллельными пучками вдоль оси сокращения [120]. Механическая работа совершается благодаря взаимодействию двух видов белковых молекул — миозина и актина. Кроме мышечного сокращения актины участвуют во многих других клеточных функциях, таких, как поддержание структуры цитоскелета, движение клеток и митоз.

В настоящее время гены, детерминирующие оба типа белков — актины и миозины, подробно изучены. В одном из исследований были получены зонды кДНК для активных генов цыпленка и дрозофилы [344]. Их использовали для гибридизации с ядерной ДНК человека, полученной от одного индивида. ДНК была обработана рестриктазой, дающей относительно длинные фрагменты (разд. 2.3.2.2). В опытах блоттинг-гибридизации было обнаружено не менее 20–30 полос. В геномной библиотеке удалось обнаружить по крайней мере 12 клонов, содержащих неперекрывающиеся рестрикционные фрагменты. Девять из них хорошо гибридизовались с мРНК актина человека, а остальные три, как оказалось, кодируют слегка отличающийся актин гладких мышц. Хотя генетический анализ сцепления не был проведен, авторы, основываясь на разных фактах, пришли к выводу, что у человека существует по крайней мере десять различных активных генов, тесное сцепление между которыми отсутствует и которые, возможно, локализованы в разных хромосомах. Например, каждый из исследованных клонов содержал уникальный набор фрагментов. Другие исследователи [388; 403] оценивают количество активных генов у человека в пределах 9–20. Активные гены оказались высокостабильными в эволюции. Кроме млекопитающих и дрозофилы они найдены также у дрожжей и слизевых грибов. Обнаружено, что  $\alpha$ -актины мышц человека, кролика и крысы идентичны, хотя не-транскрируемые районы гена оказались идентичными только частично. Дивергенция между ге-

нами актина скелетных мышц и актина сердечной мышцы произошла, по-видимому, задолго до эволюционной дивергенции указанных видов млекопитающих [375]. Подобно актинам, миозины существуют у человека как множественные изоферменты. Эти изоферменты появляются в ходе индивидуального развития в определенном порядке [295]. Молекулярные исследования генома привели к выводу о наличии мультигенного семейства миозинов, которое состоит из многих (возможно, более десяти) генов, расположенных далеко друг от друга.

*Новый принцип генетического анализа.* Обнаружение мультигенных семейств мышечных белков дало в руки исследователей новый принцип генетического анализа. До недавнего времени анализ генов начинался с выявления генетической изменчивости. Ее можно констатировать на фенотипическом уровне, например благодаря наличию наследственной болезни, или на некотором промежуточном уровне — по отсутствию функционального белка, по электрофоретическим вариантам белка или по разным антигенным детерминантам на клеточной поверхности. Фенотипическую изменчивость затем связывали с соответствующим полиморфизмом на геномном уровне. Генетические варианты часто служат экспериментальным инструментом для раскрытия основных механизмов действия гена. Однако для семейства активных или миозиновых генов неизвестны ни нормальные, ни патологические генетические варианты. Генетический анализ начинается с белка и генов как таковых безотносительно к межиндивидуальным различиям. Это стало возможным благодаря тому, что теперь в распоряжении исследователей имеется, если нужно, большое количество матричного РНК для этих белков. В настоящее время перед медицинскими генетиками стоит задача выявить наследственные заболевания, которые могут быть вызваны генетическими изменениями активных или миозиновых генов. Возможно, однако (хотя и вряд ли), что такие болезни просто не существуют — либо потому что любой генетический дефект актина или миозина летален, либо потому что экспрессия гена в мультигенном семействе настолько «эластична», что мутации в одном локусе компенсируются активностью других локусов,

так что отсутствует основа для каких-либо фенотипических отклонений. Анализ результатов в картировании генома человека (разд. 3.4.2) показывает, что многие гены идентифицированы и локализованы, хотя изменчивость по ним у человека так и не обнаружена. К таким генам относятся гены гистонов, рРНК и гены чувствительности к бактериальным токсинам и вирусам. Анализ структуры и действия таких генов несомненно важен.

### 2.3.3.9. Полиморфизм сайтов рестрикции [548; 507; 508]

*Генетическая изменчивость ДНК вне кодирующих генов.* При классическом анализе (1978) Кан и Дози [115] обнаружили полиморфизм ДНК, тесно сцепленный с  $\beta$ -глобиновым геном. Благодаря этому открытию стала возможной пренатальная диагностика серповидноклеточной анемии. Впоследствии было обнаружено много типов полиморфизма ДНК (см. разд. 6.1.3).

В публикациях по полиморфизму ДНК часто отсутствует такая важная информация, как количество обследованных индивидов. Вероятно, это обусловлено тем, что многие молекулярные биологи плохо разбираются в вопросах популяционной генетики человека. Часто авторы указывают фермент(ы), с помощью которого(ых) был открыт тот или иной полиморфизм, но не указывают те ферменты, по сайтам которых не выявлен полиморфизм. Такие данные однако необходимы для оценки как общего числа изученных сайтов, так и доли среди них полиморфных сайтов (раздел 6.1).

*В чем польза изучения полиморфизма ДНК для генетики человека?* Генетическая изменчивость молекул ДНК, и особенно нетранскрибируемых ее районов, по-видимому, явление намного более обычное, чем предполагалось на основе данных по белкам (разд. 6.1.2). Анализ полиморфизма ДНК проливает свет на историю популяции. Он важен также для понимания генетических механизмов эволюции, например для решения постоянно обсуждаемого вопроса о том, какая доля генетических различий между видами и между популяционными группами в пределах вида определяется естественным отбором, а какая — случай-



**Рис. 2.93.** Разновидности гибридной кукурузы. (По Singleton, *Elementary Genetics*, Princeton etc.: Van Nostrand, 1962.)

ным дрейфом (разд. 7.2.3). Кроме того, анализ рестрикционного полиморфизма необходим для понимания молекулярных механизмов мутаций (разд. 5.1.4); важен он и для выяснения роли некодирующей ДНК в регуляции активности гена (разд. 4.7). По предварительным данным полиморфизм ДНК X-хромосомы отмечается реже, чем для ДНК аутосом [328]. Это соответствует выводу Оно [156] о том, что X-хромосома намного более консервативна в эволюции. Возможно, что функциональные ограничения, касающиеся структуры X-хромосомы, приложимы не только к кодирующим генам, но и ко всему генетическому материалу этой хромосомы.

Данные о рестрикционном полиморфизме оказались очень важными и для картирования генома человека. Количество генов, которые уже локализованы в специфических районах хромосом человека на основе их тесного сцепления с полиморфными

сайтами ДНК, быстро увеличивается. Такое стремительное развитие открывает возможности в отношении генетического консультирования и пренатальной диагностики (разд. 9.1, о других применениях см. разд. 6.1.3). Полное картирование генома человека, когда каждую вновь выявленную мутацию можно немедленно локализовать в определенном хромосомном сегменте на основании сцепления с известным полиморфным сайтом, в настоящее время является уже вполне реальной задачей (разд. 3.4).

### 2.3.4. Динамичность генома

Методы новой генетики расширили наши знания о структуре генетического материала. Представление о хромосоме как о нитке с бусинами-генами соответствует реальным фактам теперь еще в меньшей степени, чем раньше. Неясно даже, что, собственно, мы должны называть «геном» (см. ниже). Очень важно также, что по современным данным генетический материал намного менее статичен, чем представлялось раньше. И хотя эти новые данные трудно пока как-либо использовать в биологии и патологии человека, мы считаем нужным сделать несколько кратких замечаний относительно динамичности генома.

*Мобильные элементы и транспозоны.* Известно, что початки кукурузы могут иметь мозаичную окраску (рис. 2.93). Генетика этого явления была изучена Барбарой МакКлинток [433]. Она пришла к выводу, что в геноме кукурузы существуют некие «контролирующие элементы», которые могут перемещаться с одного гена на другой, увеличивая их нестабильность. Мозаичная окраска початков у кукурузы обусловлена соматическими мутациями, связанными с присутствием контролирующих элементов. Их характерные особенности были проанализированы в большой серии изящных экспериментов. В течение длительного времени контролирующие элементы у кукурузы казались уникальным исключением. Так продолжалось до 1963 г., когда Тэйлор [524] описал «индуцированные фагом мутации у *E. coli*». Этот фаг теперь называется Mu (от

англ. mutator – мутатор). Вскоре после этого Старлингс и Сэдлер [520] описали IS-элементы у бактерий.

*Мобильные элементы у бактерий* [520; 358]. Эти элементы теперь определяют как специфические последовательности ДНК, которые могут неоднократно внедряться в разные сайты генома. У прокариот различают три класса таких элементов:

1) *Is-элементы* или простые инсерционные последовательности не содержат никаких генов, кроме тех, которые связаны с инсерционной функцией. Длина Is-элементов обычно меньше 2 т. п. н.

2) *Tn-элементы* (транспозоны). Помимо генов, участвующих в транспозиции, они несут дополнительные гены, например устойчивости к антибиотику. Длина транспозонов обычно больше 2 т. п. н.

3) *Эписомы*. Они представляют собой сложные самореплицирующиеся структуры, часто содержащие Is- и Tn-элементы.

С помощью секвенирования ДНК и других методов было показано, что мобильные элементы обладают следующими свойствами:

Is-последовательности несут на концах полные или почти полные инвертированные повторы длиной в 20–40 п. н.; большинство Tn-элементов оканчивается длинными (800–1 500 п. н.) Is-подобными последовательностями. Когда элементы встраиваются в хозяйский геном, они фланкируются короткими повторами (4–12 п. н.) ДНК хозяина (рис. 2.94).

Мобильные элементы могут встраиваться во многие сайты генома хозяина с помощью механизма негомологичной рекомбинации, но иногда внедрение бывает строго специфичным. Показано, что при внедрении мобильного элемента встраивается не он сам, а его копия, в то время как исходный элемент остается на своем месте (рис. 2.95).

Когда мобильный элемент встраивается в структурный ген, целостность последнего нарушается, что приводит к генной мутации. Кроме того, инсерция мобильного элемента может привести к возникновению хромосомных aberrаций, таких, как делеции, дупликации, инверсии и транслокации.

*Мобильные элементы у эукариот*. Как уже указывалось, мобильные элементы впервые были обнаружены у кукурузы. Впоследствии их нашли и у других эукариот, например у дрозофилы [365]. У этого организма инсерционные мутанты возникают с высокой частотой и несут вставки в определенных специфических локусах. Существует три источника мобильных элементов у дрозофилы: а) они могут происходить из генных последовательностей, рассеянных по всему геному. Показано, что некоторые элементы из этих генных последовательностей действительно способны перемещаться; б) вторым возможным источником мобильной ДНК могут быть повторяющиеся последовательности конститутивного гетерохроматина прицентральных районов хромосом; в) в качестве источника мобильных элементов могут выступать и РНК-вирусы, паразитирующие на дрозофиле. В этом случае с помощью обратной транскриптазы (разд. 2.3.2.2) вирусная РНК транскрибируется в ДНК, а последняя способна встраиваться в геном.

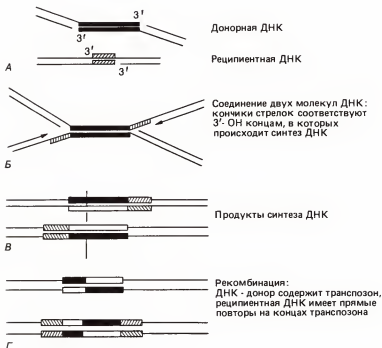
Мобильные элементы дрозофилы наряду с индивидуальными особенностями в структурной организации, такими, как наличие инвертированных повторов на концах, обладают общими свойствами с транспозонами бактерий. Они способны с высокой частотой индуцировать генные мутации, причем мутации эти нестабильны и часто ревертируют; их репликация независима; частота возникновения хромосомных aberrаций у линий, несущих мобильные элементы, повышена. Описаны также мобильные элементы у дрожжей [358].

*Значение мобильных элементов в эволюции*. Высказываются предположения, что перенос генов мобильными элементами может служить одним из факторов эволюции. Если помимо классических путей передачи наследственной информации от родителей к потомкам существует еще горизонтальный перенос (даже между отдаленными видами), разнообразие генетических изменений должно резко возрасти. Заметим, что, например, перенос генов от одной бактерии к другой с помощью фага (трансдукция) известен давно, а теперь используется и в



**Рис. 2.94.** Пример одного транспозона (Tn 5) *E. coli*. На концах транспозона имеются инвертированные повторы длиной в 1500 п. н. Они практически идентичны. Единственное различие состоит в том, что левый повтор имеет пару А–Т в том месте, где правый повтор имеет пару Г–С. Именно отсюда начинается транскрипция гена

канамицин-устойчивости (Km). Инвертированные повторы кодируют два белка, необходимых для транспозиции Tn. Поскольку левый повтор включает в себя стоп-кодон, функциональный генный продукт образуется только правым повтором.



**Рис. 2.95.** Схема, поясняющая механизм транспозиции. На двух концах транспозона (или Is-элементов; темные сегменты в молекуле ДНК сверху) двухцепочная ДНК разрезается рестриктазой (А). Таким же способом открывается с противоположного конца реципиентная ДНК (В); затем репликация ДНК приводит к удвое-

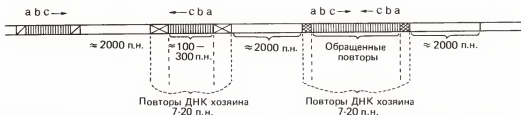
нию транспозона и фланкирующих последовательностей реципиентной молекулы (В); наконец, происходит рекомбинация, (Г) ДНК-донор содержит транспозон; реципиентная ДНК имеет транспозон и фланкирующие последовательности, состоящие из прямых повторов. (По Shapiro, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76, 1979.)

генетической инженерии эукариот (включая клетки млекопитающих). Возможно, что такие процессы могут происходить и в природе. Более того, последовательности ДНК, гомологичные глобиновому гену человека, были обнаружены у бобовых растений [312]. Функция такого гена у растений может состоять в том, чтобы «обеспечить кислородом клубеньковые бактерии в ткани». Наличие этого гена может быть объяснено переносом его от насекомых или млекопитающих.

*Существуют ли мобильные элементы в геноме человека?* До сих пор подобные элементы в геноме человека еще не выявлены. Однако, также как и у дрозофилы, у человека имеются рассеянные по геному повторяющиеся фрагменты ДНК (разд. 2.3.1.1), иногда содержащие даже палиндромные последовательности, которые по аналогии могли бы рассматриваться в качестве мобильных элементов. Например, онкогены имеют структурную гомологию с клеточными РНК-вирусами (ретровирусами, разд. 5.1.6); сходные с ретровирусами повторяющиеся элементы идентифицированы в ДНК человека [429]; показано, что вирусная ДНК мутагенна для клеток млекопитающих [1463]. В геноме человека обнаружена особая группа диспергированных повторяющихся последовательностей, так называемые *Alu*-последовательности. Уже указывалось, что ядерная ДНК человека организована по типу ДНК *Xenopus*, т. е. состоит из уникальных последовательностей длиной 1–2 т.п.н., перемежающихся повторяющимися последовательностями длиной 0,1–0,3 т.п.н. Мы говорили также, что некоторые из этих последовательностей представляют собой палиндромы, т. е. состоят из комплементарных инвертированных повторов (разд. 2.3.1.1). Однако если в геноме *Xenopus* эти повторяющиеся последовательности формируют много разных семейств, то у млекопитающих, таких, как грызуны или приматы, они обнаруживают сильную гомологию [505]. У человека  $\approx 3\text{--}6\%$  всей геномной ДНК приходится на повторяющиеся последовательности длиной 300 п.н. и  $\approx 60\%$  таких повторов, как показано рестрикционным анализом, ока-

зываются гомологичными. Общее число копий *Alu*-последовательностей оценивается в настоящее время в 500 000 на гаплоидный геном, т. е. в среднем одна такая последовательность приходится на каждые 5000 пар оснований, но распределены они неравномерно. Другими словами, примерно одна *Alu*-последовательность встречается через каждые 2,5 рассеянных по геному ДНК-повторов различного типа, включая инвертированные повторы и палиндромы (рис. 2.96). С обеих сторон они фланкированы обычно короткими прямыми повторами длиной от 7 до 20 пар оснований. В отличие от собственно *Alu*-последовательностей эти повторы уникальны для разных *Alu*-последовательностей. Как указывалось выше, такие повторы фланкируют бактериальные транспозоны, как и мобильные элементы эукариот. Именно поэтому был сделан вывод, что *Alu*-последовательности имеют такое же происхождение, что и мобильные элементы, а фланкирующие их повторы возникли в результате дупликации коротких последовательностей сайта транспозиции. Последовательности типа *Alu*, как правило, находят в первичных транскриптах РНК, они удаляются в ходе процессинга РНК (разд. 2.3.3.6). Вероятно, что рассеянными по геному эти последовательности оказываются благодаря тому, что их относительно короткие РНК-транскрипты транскрибируются обратной транскриптазой в ДНК, которая встраивается затем в различные участки генома. Поскольку эти последовательности сохранились в ходе эволюции млекопитающих (о чем свидетельствует частичная гомология между приматами, включая человека, и грызунами), они должны иметь важные функции. По аналогии с подобными элементами у других эукариот, таких, как кукуруза и дрозофила, они могут участвовать в регуляции экспрессии генов или рекомбинационном процессе как в зародышевых, так и в соматических клетках.

Первым этапом в транспозиции определенной последовательности ДНК должно быть образование ее экстрахромосомных, кольцевых копий. Подобные элементы действительно обнаружены в стареющих фибробластах *in vitro* [494; 400].



**Рис. 2.96.** Характер распределения Alu-элементов на коротком отрезке. Повторяющиеся последовательности длиной около 100–300 п.н. перемежаются с уникальными последовательностями 200 п.н. Повторы могут быть разнонаправленными (abc →; ← cba) и следовать непосредствен-

но друг за другом. Alu-элементы фланкированы короткими прямыми повторами хозяйского генома (7–20 п.н.), которые различаются по сайту инсерции. Около 1/3 всех повторов длиной 100–300 п.н. относится к семейству Alu.

**Конверсия генов.** Еще один относящийся к обсуждаемому предмету феномен давно известен в экспериментальной генетике под названием генной конверсии [122]. Различные данные, полученные при изучении глобиновых генов, позволяют предполагать наличие такого феномена и в геноме человека (разд. 4.3; см. также рис. 2.97). Генная конверсия есть не что иное, как модификация одного из двух аллелей другим, в результате чего гетерозигота Аа, например, становится гомозиготой АА. Винклер, который впервые обсуждал этот феномен более 50 лет тому назад, допускал «физиологическое взаимодействие» аллелей. Однако работы на дрожжах показали, что он связан с атипичной рекомбинацией. Данный процесс иллюстрирован на рис. 2.97. Кроссинговер всегда приводит к разрыву последовательности ДНК в сайте перекреста. Обычно разрыв репарируется, для чего последовательность сестринской хроматиды используется как матрица. Таким образом восстанавливается исходная двойная спираль. Однако иногда репарация осуществляется на матрице гомологичной хромосомы. В этом случае наблюдаются отклонения от обычной сегрегации. Генная конверсия имеет место и в соматических тканях, особенно у растений. Возможно, что в этом случае рекомбинационный процесс протекает атипично. Наличие генной конверсии не является неожиданным, поскольку спаривание гомологичных хромосом в соматических клетках и соматический кроссинговер характерны для многих видов

(см., например, [368]). Подобная ситуация может иметь место в некоторых случаях ретинобластомы (злокачественная опухоль глаза у детей) (разд. 5.1.6). Существует ряд доказательств, что генная конверсия происходит в области *HLA*-локусов и в кластере глобиновых генов. В этом последнем случае она может быть причиной таких нарушений, как  $\beta$ -талассемия, HbS или HbE (разд. 4.3).

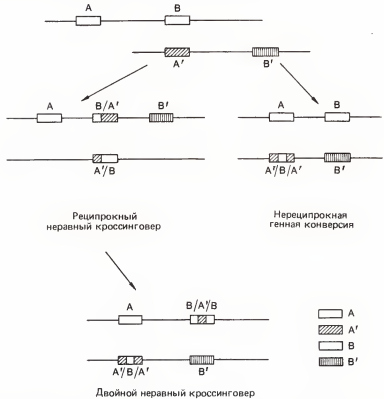
*Изменяется ли геном? Насколько стабильна генетическая информация и ее передача?* Изучая наследование моногенных заболеваний или таких полиморфных систем, как группа крови АВО или MN, мы не можем не поразиться точности передачи генетической информации, указывающей на стабильность генома. В конце концов напрашивается вывод, что встречающиеся иногда исключения вполне можно объяснить не биологическими факторами, а скорее такими, как, например, ложное отцовство. Единственное, что в какой-то степени ослабляет нашу веру во всеохватывающую надежность наследственных механизмов, — это новые мутации (разд. 5.1), но их частота обычно очень низка, и, кроме того, однажды возникнув, они подчиняются правилам генетической передачи.

Однако открытия в молекулярной биологии поставили перед нами важные вопросы. Мы знаем теперь, что гены могут фрагментироваться, перемещаться по геному, конвертировать свои аллели. Они могут встраиваться в наш геном не тем приятным



способом, который оправдан временем и который практиковали еще наши предки, а например с «бродячим» вирусом. Должны ли мы в связи с этим забыть элементарную генетику и подвергнуть сомнению все ее правила? К счастью, классические правила остаются справедливыми. Арбер в своей Нобелевской лекции, посвященной генетическому обмену, сказал: «Несмотря на то что существует множество естественных механизмов, способствующих обмену меж-

ду геномами неродственного происхождения, и *E. coli*, и высшие организмы преуспели в достижении относительно высокой общей стабильности их генетического аппарата». Новые данные углубляют наше понимание структурной организации генетического материала и механизмов его работы. Несомненно, что они могут помочь в предотвращении наследственных болезней. Но верно и то, что старые правила остаются справедливыми.



**Рис. 2.97.** Геновая конверсия VS. Двойной неравный кроссинговер. Гомологичные гены A, A', также как и B, B', расположены тандемно. Вследствие гомологии B незаконно выстраивается против A'. Рекомбинация в пределах гена приводит к утроению гена (A, B/A', B) на одной нити и к делеции (A/B) на другой. В следующем поколении у индивида, являющегося двойной гетерозиготой по утроенному и единичному гену (как показано), может произойти неравный кроссинговер, в результате которого образуются изображенные на рисунке геновые продукты. При геновой

конверсии имеет место прямое «внедрение» части гена B в ген A'. Это событие нереципрокное, и нить, несущая гены A и B, остается неизменной. Гаплотип, возникающий вследствие конверсии, идентичен гаплотипу, возникающему вследствие двойного кроссинговера. Поскольку оба рекомбинационных продукта нельзя обнаружить у человека, геновую конверсию невозможно отличить от двойного кроссинговера. Однако статистически единичное событие конверсии намного более вероятно, чем событие, нуждающееся в двух кроссинговерах.

### 2.3.5. Геном митохондрий

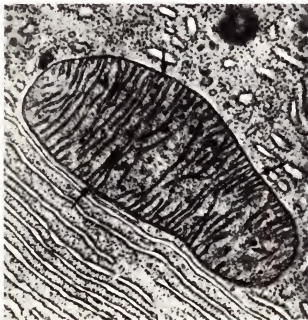
**Структура и функция митохондрий.** Митохондрии – это цитоплазматические органеллы. Их количество и форма варьируют в зависимости от функции клетки. Например, у млекопитающих в клетках печени имеется по 1000–1500 митохондрий. Все они имеют общие структурные особенности: матрикс, внутреннюю и внешнюю мембрану (рис. 2.98). Внутренняя мембрана образует характерные складки: иногда в виде «кrist», иногда в виде «трубочек». Митохондрии осуществляют важные биохимические функции, в частности, именно в них происходит аэробное окисление. Вот почему эти органеллы часто называют энергетической фабрикой организма. Энергия хранится в АТФ (аденозинтрифосфат). Из трех энергетических источников нашей пищи аминокислоты и жиры подвергаются распаду только в результате аэробного окисления, которое происходит в митохондриях. Кроме того, в них осуществляется цикл лимонной кислоты. Мембрана митохондрий содержит упорядоченную мультиферментную систему, а распределение ферментов в функционально значимом порядке гарантирует упорядоченную последовательность биохимических реакций.

Подобно всему живому митохондрии размножаются путем деления. Их синтез *de novo* невозможен. Они содержат рибосомы, которые по размеру меньше (70S), чем рибосомы цито-

плазмы (80S). Эти и другие факты привели к гипотезе, что митохондрии происходят от микрорганизмов, которые на ранних этапах эволюции вступили в симбиотические взаимоотношения с эукариотической клеткой, а затем были интегрированы, но еще сохраняют свои специфические особенности.

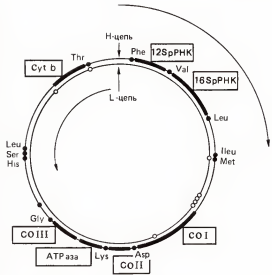
**Геном митохондрий.** Давно известно, что митохондрии имеют собственную ДНК и собственные гены, например, для транспортной РНК. С другой стороны, многие, но не все митохондриальные ферменты кодируются ядерными генами.

Совсем недавно в лаборатории молекулярной биологии Медицинского исследовательского центра в Кембридже была полностью расшифрована последовательность ДНК и выяснена организация генов в митохондриальном геноме человека ([293], рис. 2.99). Оказалось, что геном митохондрий представлен кольцевой молекулой ДНК, содержащей 16 569 нуклеотидных пар. В состав генома входят гены 12S- и 16S-рРНК, 22 различных тРНК, субъединиц I, II и III оксидазы цитохрома *c*, субъединицы 6 АТФазы, цитохрома *b* и девяти других пока неизвестных белков. В про-



**Рис. 2.98.** Электронно-микроскопическая фотография митохондрии при увеличении  $\times 53\,000$ . Стрелки указывают на наружную и внутреннюю мембрану. (По Nielsen et al., *Fundamental concepts of Biology*, New York, Wiley, 1970.)

тивноположность ядерному геному (разд. 2.3.1.1) нуклеотидная последовательность митохондрий характеризуется весьма экономной организацией: в ней нет или имеется очень мало некодирующих участков. Кроме того, в митохондриальной ДНК транскрибируются и транслируются обе цепи. Во многих случаях триплет, определяющий терминацию транскрипции, не закодирован в ДНК, а создается посттранскрипционно. И наконец, по ряду характеристик генетический код митохондриальной ДНК человека отличается от универсального: UGA кодирует триптофан, а не терминацию транскрипции, AUA кодирует метионин, а не изолейцин, AGA и AGG являются стоп-кодонами, а аргинин не кодируют. Существенно также, что в третьей позиции кодонов, которая является основным источником вырожденности кода, А или С (по сравнению с G или T) встречаются чаще, чем в ядерном геноме.



**Рис. 2.99.** Митохондриальный геном человека представляет собой двухцепочечное кольцо. Цепи отличаются по их плотности в градиенте CsCl: тяжелая (H) и легкая (L). Стрелки показывают направление транскрипции. Начало стрелок совпадает с сайтом промотора. Участки, обозначенные жирной линией, содержат идентифицированные гены двух молекул рРНК; гены Col, ColII и COIII для субъединиц оксидазы цитохрома *c*; для субъединицы 6 АТФ-синтазы и для цитохрома *b*. Гены тРНК для различных аминокислот обозначены точками. L-цепь содержит 8 генов тРНК. Пустые участки, вероятно, кодируют еще неидентифицированные гены. (По Küppers, Molekulare Genetik, 4th ed., 1985.)

**Полиморфизм ДНК и наследственные болезни, связанные с митохондриальными мутациями.** Расшифровка нуклеотидной последовательности митохондриального генома человека ускорила выявление в нем полиморфных сайтов рестрикции (разд. 2.3.2.7, см. разд. 6.1). Бланк и соавт. [305] для анализа ДНК использовали 12 рестриктаз. В группу испытуемых входило 112 человек, принадлежащих разным расовым группам. Скринировали суммарно 441 сайт рестрикции. Из всех исследованных сайтов 163 оказались полиморфными, т.е. присутствовали у одних и отсутствовали у других индивидов. Остальные 278 сайтов оказались константными. Полиморфизм наблюдали во всех частях генома. Кроме того, обнаружены расовые различия в отношении частоты ряда полиморфных вариантов [336; 305].

До настоящего времени генетическая рекомбинация митохондриальной ДНК человека не обнаружена; если она и происходит, то, вероятно, очень редко. Следовательно, рестрикционный полиморфизм митохондриальной ДНК в популяции отражает картину ее мутационной истории. Это означает, что, сравнивая популяции по полиморфизму этого типа, можно определить их

происхождение и историю много точнее, чем на основе анализа полиморфизма классического типа (разд. 6.2.3).

Большое количество митохондрий содержится в ооцитах, тогда как в спермии их только четыре. При оплодотворении эти митохондрии не попадают в ооцит. Следовательно, все митохондрии во всех клетках любого индивида имеют материнское происхождение [360]. В связи с этим возникает вопрос, может ли мутация в митохондриальной ДНК быть причиной наследственного заболевания. Такая патология должна передаваться только от матери всем ее детям (разд. 3.1.5).

Представляется, что такой тип наследо-

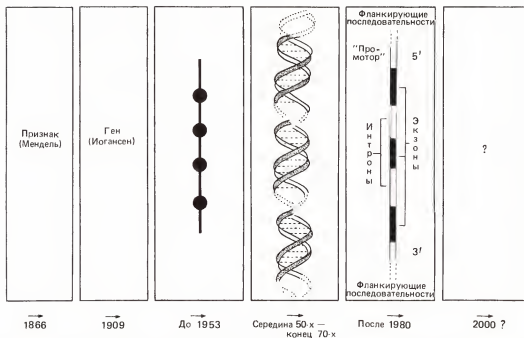
вания маловероятен, ведь каждый ооцит содержит множество митохондрий, и если в одной из них произошла мутация, все остальные остаются немутантными и, следовательно, не должно быть никакого фенотипического эффекта. С другой стороны, такой же аргумент справедлив и в отношении рестрикционного полиморфизма митохондриальной ДНК. Однако полиморфизм этого типа наследуется всеми детьми от матери, причем все митохондрии одного индивида генетически однородны. Какова причина этого пока непонятного явления? Может быть, все митохондрии ооцита являются потомками одной стволовой митохондрии?

### 2.3.6. Новая генетика и концепция гена

**Молекулярная цитогенетика.** Методы новой генетики важны не только для изучения структуры генов, они оказывают все возрастающее влияние на эффективность цитогенетической диагностики. Например, мелкие хромосомные aberrации, такие, как делеции и транслокации, идентифицируются теперь намного точнее, чем в недавнем прошлом. Мелкие делеции, не выявляемые классическими методами, в настоящее время можно обнаружить, если имеется ДНК-зонд для делетированного участка. Возможно также очень ранняя (8–10 недель беременности) пренатальная диагностика пола эмбриона с использованием Y-специфического ДНК-зонда, биопсии ворсин хориона (разд. 9.1) и методики Саузерна. Получены новые, впечатляющие данные относительно структуры, филогенетических взаимосвязей и эволюции обеих половых (X и Y) хромосом (разд. 3.4). Новая технология несомненно должна войти в арсенал средств тех учреждений, которые занимаются генетическим консультированием и пренатальной диагностикой. Современная служба медико-генетической помощи остро нуждается в специальном дорогостоящем оборудовании и хорошо обученном персонале. Готово ли общество к крупномасштабным затратам на такую службу? Как поступать слаборазвитым странам, у которых и без того имеется множест-

во неотложных экономических трудностей? Возникают и совершенно новые проблемы. Например, в некоторых популяциях еще существуют традиции, согласно которым сыновей предпочитают дочерям. Не приведут ли появившиеся возможности осуществлять выбор пола детей к сложным и непредвиденным последствиям?

**Что такое ген?** (рис. 2.100). В классической генетике ген рассматривался как единица мутации, рекомбинации и функции. Принято было считать также, что гены расположены в хромосоме в линейном порядке подобно бусинкам на нити. Однако детальный генетический анализ показал, что такое представление является упрощенным: например, у дрожжей два тесно сцепленных мутантных гена, будучи на одной хромосоме (т.е. в *цис*-положении), дают меньший фенотипический эффект, чем те же две мутации, расположенные на гомологичных хромосомах (т.е. в *транс*-положении). Нередко фенотипический эффект и вовсе отсутствовал. Гены, демонстрирующие такой *цис-транс*-эффект, были названы псевдоаллелями (см. также разд. 3.5.1; рис. 3.30). В дальнейшем биохимический анализ показал, что *цис-транс*-эффект возникает в том случае, когда две мутации затрагивают разные сайты в пределах структурного гена, кодирующего один простой белок. Когда две такие мутации находятся в *цис*-положении, гомологичный нормальный ген способен контролировать синтез функционально интактного белка. С другой стороны, когда две мутации находятся в *транс*-положении, интактный белок не образуется. Развитие молекулярной генетики в 50-е гг. сделало необходимым введение новой терминологии. По предложению Бензера (1957; [569]) единицу рекомбинации стали называть реконом, единицу мутации – мутоном, а единицу функции – цистроном (по *цис-транс*-эффекту). В последующие годы было показано, что рекон и мутон соответствуют отдельному нуклеотиду – самой маленькой единице генетического материала, тогда как цистрон соответствует фрагменту ДНК, кодирующему одну полипептидную цепь. Из этих трех терминов только последний стал популярным среди гене-



**Рис. 2.100.** Историческое развитие концепции гена. Гены были постулированы Иогансеном. Они заменили в наших представлениях наследственные «задатки» Менделя, которые, по его мнению, ответственны за передачу признаков. Обнаружение сцепления генов в хромосомах привело к модели «бусинки на нити», согласно которой гены (бусинки) нанизаны на хромосому (нить). Материальная основа гена оставалась неизвестной. Важнейшим этапом в развитии концепции гена было открытие того факта, что за передачу наследственной информации в клетке ответственна ДНК. Геном стали считать специфическую последовательность ДНК, которая кодирует полипептидную последовательность (три нуклеотида детерминируют одну аминокислоту). Вскоре было показано, что единица, определяю-

щая свойства полипептида (цистрон), отличается от единицы рекомбинации (рекон) и от единицы мутации (мутон). Мутон соответствует одному основанию. Затем было обнаружено, что определенные участки ДНК не кодируют белки, а выполняют, по-видимому, регуляторную роль. Было показано также, что структурные гены прерываются некодирующими последовательностями (интронами). Кодировющие последовательности структурных генов называли экзонами. Границы фланкирующих и «регуляторных» последовательностей (5') и (3') не уточнены. Следовательно, в середине 80-х гг. в структуре гена еще остается много неясного. Кодировющие и вставочные последовательности гена можно определить точно (см. также [247a]).

тиков как синоним гена в смысле единицы функции.

По мере углубления наших знаний о структуре генетического материала (наличие интронов, промоторных последовательностей, псевдогенов и т.д.), и особенно в связи с открытием мультигенных семейств генов, таких, как семейство Hb $\beta$ , понятие «ген» становится все более и более расплывчатым. В настоящее время все еще

неясно, какие из длинных последовательностей ДНК, включая повторы типа Alu, рассеянных среди кодирующих районов, необходимы для функции гена. Хотя о локусе Hb $\beta$  мы знаем больше, чем о любом другом гене млекопитающих (см. также разд. 4.3), трудно четко определить границы этого генного комплекса. По-видимому, для определения гена разумно пользоваться *цис-транс*-тестом (так называемый компле-

ментационный критерий). В анализе генетической гетерогенности на биохимическом уровне этот критерий действительно используется, хотя получаемая с его помощью информация является все же недостаточно специфичной. Для нового определения «гена» необходима дополнительная информация, основанная на результатах молекулярного анализа на уровне ДНК.

*Новые результаты по структуре гена и формальная генетика.* Обсуждение данных о структуре гена (разд. 2.3) может создать впечатление, что большинство результатов классического генетического анализа устарело. Это, однако, не так. Для анализа типа наследования в семьях, для решения вопро-

са о генетическом сцеплении между неаллельными генами, для изучения генетической структуры популяции принципы формальной генетики не только применимы, но и необходимы. Ситуацию можно сравнить с той, которая сложилась в свое время в физике: квантовая механика помогла нам понять природу света намного полнее, чем классическая физика. Однако геометрическая оптика останется не только правильной, но и совершенно необходимой для многих практических приложений, таких, как конструирование очков или микроскопов. Следовательно, она является необходимой частью каждого руководства по физике.

### 3. Формальная генетика человека

#### 3.1. Менделевские типы наследования и их приложение к человеку

Фундаментальные открытия Менделя обычно формулируют в виде трех законов:

1. Скрещивание особей, гомозиготных по разным аллелям, дает генетически однородное потомство (поколение  $F_1$ ), все особи которого гетерозиготны по этим аллелям. При этом, какая из двух гомозиготных особей мужского пола, а какая женского, значения не имеет – закон однородности и реципрокности. Свойство реципрокности справедливо только для аутосомных генов.

2. При скрещивании гетерозигот поколения  $F_1$  между собой (интеркросс) выщепляются разные генотипы: половина из них снова оказываются гетерозиготами, а гомозиготные потомки каждого из двух родительских типов составляют по одной четверти. И в следующих поколениях при скрещивании гетерозигот повторяется такое же расщепление 1:2:1, тогда как в скрещиваниях одинаковых гомозигот, как отмечалось выше (разд. 1.4), расщепления нет.

Мендель правильно объяснил этот результат, предположив, что у гетерозигот образуются зародышевые клетки двух типов в отношении 1:1 – закон расщепления и закон чистоты гамет.

3. При скрещивании особей, различающихся по двум и более парам генов, каждая пара расщепляется независимо. Наблюдаемые сегрегационные отношения определяются статистическим законом независимого комбинирования. Этот закон справедлив только при отсутствии сцепления (разд. 3.4).

Диплоидные клетки человека содержат 46 хромосом: две половые хромосомы и 44 аутосомы, образующие 22 пары гомологов. Во время мейоза при формировании гап-

лоидных зародышевых клеток (гамет) гомологичные хромосомы каждой пары расходятся в разные гаметы. После оплодотворения отцовская и материнская гаметы объединяются, образуя диплоидную зиготу. Пол зиготы определяется половыми хромосомами: в норме женщина имеет две X-хромосомы, мужчина – одну X- и одну Y-хромосому (разд. 2.1.2).

Для понимания статистического характера сегрегационных отношений у человека важно учитывать, что у мужчин число образующихся гамет огромно (разд. 5.1.3), но в оплодотворении участвует лишь малая их часть. В случае одного локуса этот процесс в большинстве случаев может считаться случайным (явные исключения обсуждаются в разд. 3.1.5).

Обозначим два аллеля, A и A'. Их возможные комбинации в зиготе представлены на рис. 3.1. Как отмечалось выше, теоретически ожидаемые сегрегационные отношения (указанные на рисунке) являются вероятностями, и поэтому наблюдаемые фактически численности зигот каждого типа необходимо с помощью статистических методов проверить на их соответствие частотам, ожидаемым на основе конкретной генетической гипотезы.

С точки зрения медицинской генетики скрещивание одинаковых гомозигот ( $AA \times AA$  или  $A'A' \times A'A'$ ) не представляет интереса. Скрещивание разных гомозигот ( $AA \times A'A'$ ) происходит крайне редко и поэтому не имеет практического значения. Наиболее важными, как будет объяснено ниже, являются скрещивания между гомозиготами и гетерозиготами ( $AA' \times AA$ ) и между двумя гетерозиготами ( $A'A \times A'A$ ).

На основании своих опытов Мендель пришел к выводу, что далеко не каждому генотипу соответствует четко отличающийся

## 1. Генотипы родителей :

		Гаметы	
		А	А
Гаметы	А	А А	А А
	А	А А	А А

Генотипы детей :

А А

## 2. Генотипы родителей :

		Гаметы	
		А	А
Гаметы	А	А А	А А
	А	А А	А А

Генотипы детей :

1 А А : 1 А А

## 3. Генотипы родителей :

		Гаметы	
		А	А'
Гаметы	А	А А	А А'
	А'	А А'	А' А'

Генотипы детей :

1 А А : 2 А А' : 1 А А'

## 4. Генотипы родителей :

		Гаметы	
		А	А
Гаметы	А	А А	А А
	А	А А	А А

Генотипы детей :

А А

Рис. 3.1. Типы браков в случае одного локуса с двумя аллелями.

ся фенотип: часто гетерозиготы в той или иной степени сходны с одной из гомозигот. Аллель, который определяет фенотип гетерозиготы, Мендель назвал доминантным, а другой, не проявляющийся в гетерозиготном состоянии, — рецессивным. По мнению некоторых специалистов, в настоящее время эти термины стали бесполезными и, поскольку они могут вводить в заблуждение, особенно в генетике человека, от них стоит отказаться. Действительно, на уровне своих первичных эффектов гены не являются ни доминантными, ни рецессивными. Однако на фенотипическом уровне дифференцировать их по этому принципу важно, поскольку биохимические механизмы доминантных (разд. 4.6) и рецессивных (разд. 4.2) наследственных заболеваний обычно различаются. Иначе говоря, тип наследования может указывать на вероятный биохимический механизм заболевания.

В последние годы в связи с разработкой

методов, позволяющих проводить анализ на уровне, более близком к первичному эффекту генов, обнаруживаются все больше примеров, когда каждому генотипу соответствует свой фенотип, отличный от остальных. Этот тип наследования иногда называют кодоминантным. В тех случаях, когда фенотип гетерозиготы является промежуточным между фенотипами гомозигот, используется отчасти устаревший термин «промежуточное наследование».

### 3.1.1. Кодоминантный тип наследования

Первые случаи кодоминирования у человека были обнаружены при изучении наследования групп крови, например, системы MN (табл. 3.1). С развитием методов генетического анализа на уровне белков было открыто множество подобных примеров (разд. 6.1.2). Данные табл. 3.1 четко



**Таблица 3.1.** Семейные исследования по генетике групп крови MN. (По Wiener et al., 1953 [952].)

Тип брака	Число семей	Тип потомков			Общее число детей
		M	N	MN	
M × M	153	326	0	(1)	327
M × N	179	(1) <sup>1)</sup>	0	376	377
N × N	57	0	106	0	106
MN × M	463	499	(1)	473	973
MN × N	351	(3)	382	411	796
MN × MN	377	199	196	405	800
	1580	1028	685	1666	3379

<sup>1)</sup> Скобки указывают на внебрачное происхождение.

указывают на модель одного гена с двумя аллелями M и N, причем гомозиготы имеют фенотипы M и N, а гетерозигота – MN. Этот пример позже будет использован для статистического сравнения ожидаемых и наблюдаемых сегрегационных соотношений. Указанные в скобках «абберрантные» случаи, которые на первый взгляд противоречат обсуждаемой генетической гипотезе, были следствием внебрачного рождения.

### 3.1.2. Аутосомно-доминантный тип наследования

Первое описание родословной с аутосомно-доминантным наследованием аномалии у человека дано в 1905 г. Фараби [656]. В учебниках это заболевание обычно называют брахидактилией (короткопалость), но из оригинальной статьи видно, что у больных не только укорочены фаланги пальцев рук и ног, но и редуцировано число самих фаланг (рис. 3.2). Такие люди характеризуются, кроме того, низким ростом (в среднем 159 см у трех мужчин), по-видимому, вследствие укорочения ног, а также короткими руками. Во всем остальном, по мнению Фараби,

«они совершенно нормальны и, по-видимому, почти не испытывают неудобств от своего порока. На свой единственный недостаток – короткие пальцы – жаловались лишь женщины-пианистки:

они были не в состоянии охватить полную октаву и поэтому не могли хорошо играть».

На рис. 3.3 показана родословная с 36 пораженными (в поколениях II – V), среди которых 13 мужчин и 23 женщины. Среди непораженных – 18 мужчин и 15 женщин. Признак передается от одного из родителей примерно половине детей, причем передача признака не зависит от пола. К сожалению, Фараби не включил в родословную детей непораженных родственников. Анализ других родословных свидетельствует об отсутствии брахидактилии среди потомства родителей, которые не являются носителями доминантного гена. Впоследствии семья, о которой сообщал Фараби, была обследована вновь [708]. Добавились дети непораженных членов семьи и некоторых пораженных. Рентгенологическое обследование подтвердило, что укорочены не только кисти и стопы, но также и кости дистальных отделов верхних и нижних конечностей. Основной дефект затрагивает предположительно эпифизарные зоны роста. В настоящее время такая аномалия называется брахидактилией типа A1 (11250). (Число в скобках указывает порядковый номер заболевания по каталогу Мак-Кьюсика [133].)

Пораженные являются гетерозиготами по аутосомному гену, который имеет четкое и регулярное фенотипическое выражение. Следовательно, брахидактилия – признак доминантный. У данной семьи выявлены две особенности, которые позже оказались широко распространенными.

1. Описанные аномалии были почти идентичными у всех членов семьи, и у каждого пораженного они обнаруживались на всех четырех конечностях. Это обычное свойство пороков с регулярным типом наследования. Причина симметрии очевидна, если предположить, что одни и те же гены действуют на все четыре конечности.

2. Аномалия почти не сказывалась на здоровье пораженных. Отсутствие существенного ухудшения здоровья типично для случаев с обширными родословными. Репродуктивная функция у пораженных брахидактилией не нарушается, иначе признак не наследовался бы и вскоре после появления первичной мутации исчез. Это и есть ответ на вопрос, почему, особенно в случае более серьезных доминантных поражений, обширные родословные – скорее исключение, чем правило. Большинство заболеваний, вызываемых генными мутациями и наблюдаемых в нынешних поколениях, имеют

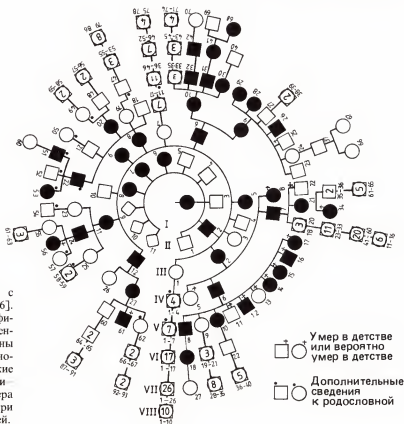


**Рис. 3.2.** Брахидактилия у одной из представительниц младшего поколения родословной Фарابي. [708].

сравнительно недавнее происхождение; часто они являются результатом вновь возникших мутаций в гаметах одного из родителей (разд. 5.1.3).

*Позднее проявление (манифестация), неполная пенетрантность и варьирующая экспрессивность.* Иногда тяжелое доминантное заболевание проявляется только во время или после репродуктивного периода. В этом случае, несмотря на тяжесть заболевания, обычно можно составить обширные родословные. Классический пример — это хорея Гентингтона (14310) — дегенеративное заболевание нервных клеток в базальных ганглиях, приводящее к непроизвольным движениям экстрапиримидного характера, изменениям личности и постепенно нарастающему слабоумию.

Вендт и Дром [941] провели всестороннее исследование всех случаев хореи Ген-



**Рис. 3.3** Родословная с брахидактилией [656]. Обозначения: черные фигуры — пораженные женщины (●) и мужчины (■); римские цифры — номера поколений; арабские цифры: под фигурами — последовательные номера в родословной, внутри фигур — количество детей.

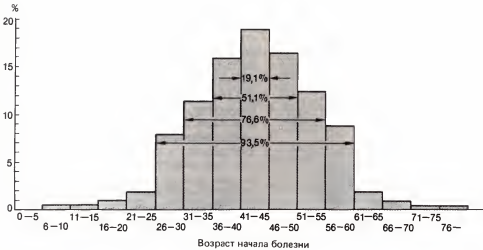


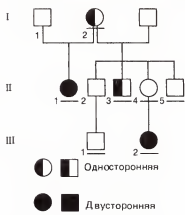
Рис. 3.4. Распределение 802 случаев хорсы Гентингтона по возрасту начала заболевания [941].

тингтона в Западной Германии. Распределение этих случаев по возрасту начала заболевания показано на рис. 3.4. Подавляющая часть пораженных вступила в брак, когда у них уже проявились клинические симптомы. Даже среди нескольких тысяч пораженных авторы не смогли найти ни одного случая, который достоверно можно было бы отнести за счет новой мутации. Сходные результаты были получены в другом исследовании, проведенном в штате Мичиган (США) [850].

Другой характерный для доминантных признаков феномен — это неполная пенетрантность [912]. Пенетрантность — это статистическое понятие, которое определяется как доля индивидов с конкретным генотипом, у которых соответствующий этому генотипу фенотип проявляется. В случае неполной пенетрантности при передаче признака иногда одно поколение пропускается, причем признак не проявляется у того индивида, который, судя по родословной, должен быть гетерозиготным. При этом доля пораженных среди sibсов (после соответствующих поправок, разд. 3.3) оказывается меньше ожидаемой сегрегационной частоты. Примером заболевания с неполной пенетрантностью может служить

ретинобластома (18020) — злокачественная опухоль глаз у детей. Двусторонние случаи (и случаи по крайней мере с двумя первичными опухолями) всегда наследуются доминантно, между тем большинство односторонних единичных опухолей не имеет наследственной природы и, вероятно, вызывается соматической мутацией (разд. 5.1.6). Даже в тех родословных, которые демонстрируют регулярное доминантное наследование, нередко можно обнаружить пропуск поколения (рис. 3.5). Так, при оценке сегрегационной частоты в одной большой выборке оказалось, что поражены около 45% sibсов вместо 50%, ожидаемых при регулярном доминантном наследовании. Следовательно, пенетрантность всех случаев (односторонних и двусторонних) составляет около 90%. Пенетрантность в семьях с двусторонними случаями выше, чем с односторонними. Следует, однако, учитывать, что оценка пенетрантности часто зависит от применяемых методов обследования.

Для многих доминантных признаков характерна такая ситуация, что ген проявляется у всех гетерозигот, но в разной степени. Один из примеров — нейрофиброматоз (16220). У некоторых больных имеются от-



**Рис. 3.5.** Родословная с ретинобластомой в случае неполной пенетрантности. Непораженная женщина II. 4 должна быть гетерозиготой, поскольку ее мать I. 2 и дочь III. 2 поражены. (Черточка под фигурой означает, что больной обследован авторами.)

четливо выраженные фиброматозные опухоли и «кофейные» пятна, а у других, даже в тех же семьях, можно обнаружить лишь пятна. Для описания этого явления используется термин «варьирующая экспрессивность» (Тимофеев-Ресовский, 1931, [912]) или равнозначный ему – «степень выражения» (manifestation rate). Однако следует помнить, что они не объясняют биологический механизм, а скорее служат указанием на то, чего мы не знаем, но что не следует игнорировать.

В самом деле, на первый взгляд кажется неожиданным, что так много доминантных заболеваний обнаруживают значительную межиндивидуальную изменчивость и по возрасту начала, и по тяжести проявления. Было бы понятно, если бы такие различия имели место только для разных семей. Молекулярно-биологические данные (разд. 5.1.4) говорят о том, что мутации, вызывающие эти заболевания, почти всегда отмечаются в разных семьях. Внутри семьи, как правило, наблюдается корреляция по возрасту начала и тяжести проявления заболевания. Например, для возраста начала хореи Гентингтона Вендт и Дром [941] получили коэффициент корреляции 0,57.

Однако и внутри семей, в которых аномальные гены идентичны по происхождению, регистрируется заметная изменчивость. Когда в этих случаях мы апеллируем к таким понятиям, как «генетический фон» (или действие всех других генов), это снова не более чем указание на наше незнание. Анализ, основанный на методах формальной генетики, внес очень скромный вклад в понимание этих феноменов (обсуждение аллельной модификации и ограниченных полом генов-модификаторов см. в разд. 3.1.7).

*Влияние гомозиготности на выражение аномальных доминантных генов.* Аномальный ген считается доминантным, если фенотип гетерозигот четко отличается от фенотипа здоровых гомозигот. В популяциях человека почти все носители доминантных заболеваний гетерозиготны по той или иной мутации. Иногда случается, что два носителя одной и той же аномалии вступают в брак и имеют детей. Тогда четверть из них будут гомозиготами по мутантному аллелю. Такая ситуация вполне реальна, когда супруги – родственники. В кровнородственном браке между двумя носителями брахидактилии средней степени тяжести (11260) родился ребенок, у которого недоставало пальцев на руках и ногах и, кроме того, имелись множественные уродства скелета. Он умер в возрасте одного года. Однако у его сестры (как и у родителей) наблюдалась аномалия пальцев только средней степени тяжести [792].

Еще одним примером может служить пельгеровская (Pelger-Huet) аномалия нейтрофилов (16940) [823]. Это безвредная аномалия полиморфноядерных гранулоцитов, при которой вместо нормальной множественной сегментации ядер обнаруживаются только два сегмента примерно равного размера. Хроматин выглядит грубым и сморщенным. Эта аномалия четко наследуется по регулярному аутосомно-доминантному типу. Она не очень редкая (частота около 1:1000 или 1:3000 в центрально-европейских популяциях). Такой же дефект нейтрофилов обнаружен и у кролика. В связи с этим появилась потенциальная возможность получать в соответствующих скрещиваниях гомозиготное потомство, но ее реализация столкнулась с трудностями: гомозиготы часто погибали еще в пренатальном пе-

риоде. В конце концов удалось получить несколько особей, сохранявших жизнеспособность относительно короткое время. У этих животных все ядра гранулоцитов оказались круглыми, сегментации вообще не было, а хроматин выглядел грубым даже в лимфоцитах и плазматических клетках (рис. 3.6). Помимо гематологических аномалий были, однако, и другие симптомы, такие, как хондродисплазия конечностей и ребер и общая задержка развития. Аномалии ребер приводили, по-видимому, к сжатию органов грудной клетки и гибели животных. Нахтсхейм предсказал ту же самую аномалию лейкоцитов и подобные костные симптомы у гомозиготных людей. К счастью, это предсказание оказалось справедливым лишь отчасти.

Первый случай гомозиготности у человека при синдроме пельгеровской аномалии лейкоцитов описан в 1952 г. в Голландии [707]. Это был ребенок от брака кузенов, цыган по происхождению. 94% его гранулоцитов оказались сходными с гранулоцитами гомозиготных кроликов (рис. 3.6, 3.7). Однако у этого гомозиготного индивида (как и у других) не было никаких признаков аномалии скелета.

Известны и другие примеры гомозиготности доминантных аномалий. В одной семье родители с наследственной гемморагической телеангиэктазией имели ребенка с множественными тяжелыми внутренними и внешними телеангиэктазами, умершего в возрасте 2,5 месяца [885]. Аналогично очень тяжелая форма буллезного эпидермолиза наблюдалась у двух из восьми детей, родители которых страдали той же болезнью, но в форме средней тяжести. Описаны также супруги, оба с миопатией, при которой поражаются дистальные мышечные группы конечностей. Они имели 16 детей, у троих из которых выявлены атипичные и особо тяжелые симптомы: при более ранней манифестации были поражены длинные сгибательные мышцы и проксимальные мышечные группы бедер [940]. Эпителиома типа *adenoides cysticum* (13270) – доминантное кожное заболевание, характеризующееся множественными узловатыми новообразованиями. Одна больная женщина, оба родителя которой страдали этим же заболеванием, имела особенно тяжелые симптомы, и все ее восемь детей проявили эту аномалию (рис. 3.8) [677]. Другими примерами могут служить ахондроплазия (10080) и синдром Элерса-Данлоса (13000) [832]. Все эти случаи указывают на то, что гомозиготы по доминантным аномалиям поражены тяжелее, чем гетерозиготы.

С точки зрения наших знаний о действии генов подобные факты не являются

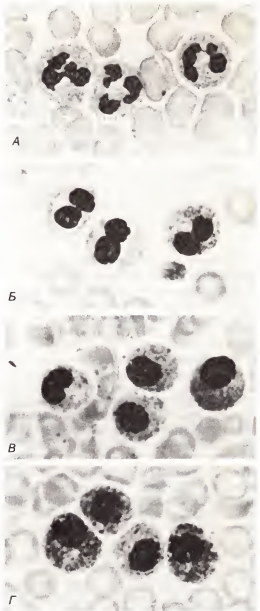
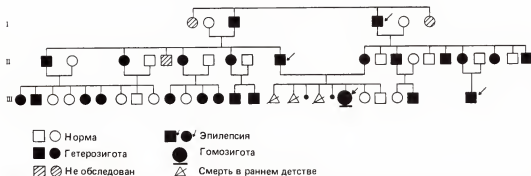


Рис. 3.6. Пельгеровская аномалия полиморфно-ядерных нейтрофилов. А. Нормальные гранулоциты. Б. Пельгеровские клетки у гетерозиготного носителя. В и Г. Гранулоциты у гомозигот человека и кролика соответственно.



**Рис. 3.7.** Родословная с девочкой, гомозиготной по гену пельгеровской аномалии нейтрофилов [707].

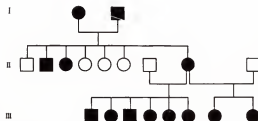
неожиданными. Например, механизм действия доминантного гена при семейной гиперхолестеринемии (14440) уже известен и связан со снижением количества рецепторов, взаимодействующих с липопротеинами низкой плотности. При этом, как и ожидалось, обнаруживаются различия между пораженными гомозиготами и гетерозиготами: полное отсутствие рецепторов у первых и 50%-ное снижение их числа у вторых (разд. 4.6.4). У пораженных гомозигот развивается массивная гиперхолестеринемия, и обычно они умирают от инфаркта миокарда до 30 лет.

По Менделю ген доминантен, когда фенотип гетерозиготы сходен с фенотипом одной из гомозигот. Приведенные выше примеры клинически более тяжелого проявления доминантных генов у гомозигот по

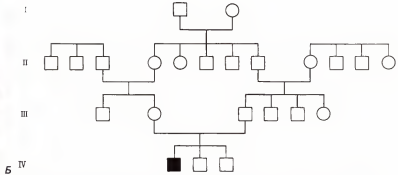
сравнению с гетерозиготами показывают, что в генетике человека это строгое определение не выполняется. У человека доминантными называют все те признаки, по которым гетерозиготы заметно отличаются от нормальных гомозигот безотносительно к фенотипу аномальных гомозигот. В строго менделевском определении большинство или даже все доминантные признаки человека были бы «промежуточными». Однако в настоящее время общепутребительно менее строгое толкование термина «доминирование».

### 3.1.3. Аутосомно-рецессивный тип наследования

Тип наследования называется рецессивным, когда гетерозигота фенотипически не отличается от нормальной гомозиготы. Однако во многих случаях с помощью специальных методов между ними можно обнаружить слабые различия (разд. 4.2.2.8). В отличие от доминантного наследования, при котором почти все пораженные потомки происходят от браков гетерозигот со здоровыми гомозиготами, большинство браков, наблюдаемых при рецессивных заболеваниях, происходит между фенотипически нормальными гетерозиготами. В потомстве такого брака генотипы AA, Aa и aa будут представлены в отношении 1:2:1 и вероятность



**Рис. 3.8.** Гомозиготная женщина с кистозно-аденоидной эпителиомой и ее потомство в двух браках [677].



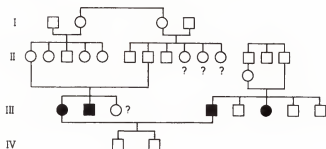
**Рис. 3.9.** Пигментная ксеродерма. А. Девочка с этим заболеванием (Courtesy of Dr.U.W. Schnyder). Б. Родословная с единичным случаем в браке двоюродных сибсов [603].

того, что ребенок окажется пораженным, составит 25%. Столетие назад, когда Гэррод наблюдал описанные им случаи алкаптонурии (разд. 1.5), «семейный» характер рецессивных заболеваний можно было легко распознавать благодаря большому размеру семей. Сегодня, однако, в индустриальных обществах преобладают двухдетные семьи. Это означает, что больной рецессивным заболеванием очень часто оказывается единственным пораженным в своей семье. И вместе с тем генетический риск для любого последующего ребенка в таких семьях все равно составит 25%. Это важно с точки зрения генетического консультирования.

Пигментная ксеродерма (27870) — одно из рецессивных заболеваний, привлекавшее недавно внимание молекулярных биологов. Патология обусловлена неспособностью клеток больного репарировать повреждения ДНК, вызванные ультрафиолетовым излучением. В результате развивается эритема, особенно на лице, с последующей атрофией и телеангиэктазиями. Наконец, развивается рак кожи, который в отсутствие лечения приводит к летальному исходу. На рис. 3.9 представлена типичная родословная, в которой родители являющиеся двоюродными сибсами. Степень кровного родства среди родителей, больных редким рецессивным заболеванием, обычно значительно выше среднего уровня в популяции. Как правило, родители наследуют этот ген

от общего предка (разд. 6.3.1). Во времена Гэррода это служило мощным инструментом распознавания редких рецессивных заболеваний. Так, из десяти семей алкаптонуриков в шести родители оказались двоюродными сибсами (разд. 1.5). Сегодня, однако, в большинстве индустриальных стран уровень кровного родства заметно снизился. Следовательно, даже если уровень кровного родства в семьях с пораженным ребенком значительно превышает средний для популяции, это не означает, что при ограниченном количестве изучаемых семей исследуемая выборка обязательно будет содержать кровнородственный брак. Снижение числа родственных браков и уменьшение размера семьи делают все более трудным надежное распознавание аутосомно-рецессивного типа наследования. К счастью, теперь мы уже не зависим всецело от формальной генетики. Если заболевание редкое, и в особенности если у ребенка обнаруживаются симптомы врожденного нарушения метаболизма и при этом можно установить дефект какого-либо фермента, то рецессивный тип наследования весьма вероятен (конечно, если доказательства противоположного предположения отсутствуют). Об этом необходимо помнить при проведении генетического консультирования.

Как правило, подавляющее большинство больных аутосомно-рецессивными забо-



**Рис. 3.10.** Родословная с глухонмотой, иллюстрирующая генетическую гетерогенность (Mühlmann, 1930 [817]). Оба родителя поражены наследственной глухонмотой: у них есть пораженные сибсы, и оба они из кровнородственных браков. Тем не менее двое их сыновей не глухие. Они являются двойными гетерозиготами по двум разным генам глухонмоты.

леваниями – это дети двух гетерозигот. При рецессивном наследовании редкие браки двух гомозигот с одной и той же аномалией практически всегда приводят к однозначному результату: если оба родителя гомозиготны по одному и тому же рецессивному гену, то в их браке рождаются исключительно пораженные дети. О ряде таких примеров сообщалось при альбинизме (20310, 20320). С другой стороны, в некоторых браках между альбиносами рождались дети с нормальной пигментацией [914]. Если эти дети не являются внебрачными, то можно сделать вывод, что родители гомозиготны по разным «альбино» мутациям, т.е. у человека должны существовать по крайней мере два локуса альбинизма. Вот так методами формальной генетики доказывалась генетическая гетерогенность заболеваний с одинаковым аутосомно-рецессивным типом наследования и одинаковым (или сходным) фенотипом. В случае альбинизма генетическая гетерогенность в настоящее время доказана биохимически [203]. Генетическая гетерогенность была выявлена и для глухонмоты (рис. 3.10). Известно, что глухоту могут вызывать и средовые причины. Примечательно поэтому, что в показанной на рисунке родословной оба супруга имеют пораженных сибсов и оба родителя происходят из кровнородственных браков. Генетическая гетерогенность этого заболевания подтверждена сейчас многими методами (приложение 3).

*Псевдоминирование при аутосомно-рецессивном наследовании.* В популяции, хотя и довольно редко, встречаются браки гетерозигот и пораженных гомозигот. В таком браке среди детей ожидается сегрегацион-

ное отношение 1:1. Поскольку отношение 1:1 характерно и при доминантном наследовании, то эта ситуация называется «псевдоминированием». К счастью, браки между гетерозиготами и пораженными гомозиготами редки.

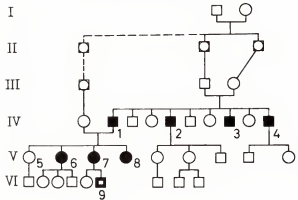
Приведем такой пример. С тех пор как Гэррод открыл алкаптонурию (20350) (разд. 1.5), во всех семьях подтверждался аутосомно-рецессивный тип ее наследования. Это продолжалось до 1956 г., когда неожиданно для всех была описана семья с фенотипически сходной, но явно доминантной формой (рис. 3.11). Несколько лет спустя авторы отказались от такого заключения: дальнейшие семейные исследования обнаружили типичную рецессивную алкаптонурию. Эффект псевдоминирования создавали некоторые браки между родственниками (гомозиготы × гетерозиготы). Если индивид, страдающий рецессивным заболеванием, вступает в брак с нормальной гомозиготой, то все дети будут гетерозиготными и, следовательно, фенотипически нормальными. Когда мы научимся успешно лечить рецессивные заболевания, количество браков пораженных, но вылеченных гомозигот будет возрастать.

Экспрессивность, как правило, более однородна внутри семьи при рецессивных, нежели при доминантных заболеваниях. Неполная пенетрантность, по-видимому, довольно редкое явление. Однако межсемейная изменчивость может быть существенной.

*Компаунды.* При использовании тонких методов биохимического анализа обнаружилось, что аллели одного гена нередко различаются. Следовательно, если мы опреде-

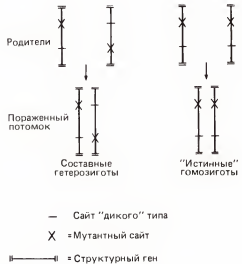


**Рис. 3.11.** Родословная с псевдоминированием при алкаптонурии – аутосомно-рецессивном заболевании. □ – предположительно алкаптонурик, ◻ – пол неизвестен [790].



ляем гомозиготность как совпадение по специфической нуклеотидной замене внутри определенного кодона, то многие больные рецессивными заболеваниями являются, вероятно, не гомозиготами, а составными гетерозиготами («компаундами»). Как мы увидим в разд. 4.3, при некоторых гемоглобинопатиях гомозиготность по ряду аллелей действительно связана с нуклеотидными заменами. Однако, исходя из современного уровня наших знаний, для большинства рецессивных заболеваний это определение еще нельзя рекомендовать в качестве наиболее общего (рис. 3.12). Как правило, мы даже не знаем, относится ли наша современная терминология к единичным генам или к собственно хромосомным перестройкам, которые пока еще просто не выявляются стандартными методами. По мере внедрения новых молекулярных методов (разд. 2.3) общепринятая терминология будет быстро меняться. Важно помнить, что определения меняются по мере углубления наших знаний о механизмах, лежащих в основе изучаемых явлений.

Можно быть почти уверенным в том, что пораженная гомозигота наследует две копии одной и той же мутации, если обе эти копии имеют общее происхождение, например, если родители пораженного ребенка – двоюродные брат и сестра, и к тому же заболевание очень редкое. Когда речь идет об относительно широко распространенных заболеваниях, таких, как кистозный



**Рис. 3.12.** Формирование компаундной (составной) гетерозиготы. Каждая вертикальная линия соответствует мутантному локусу на одной хромосоме родителя. Среди многих возможных мутационных сайтов указаны только два. Если родители гетерозиготны по мутациям, которые расположены в идентичных сайтах, то пораженный ребенок будет «истинной» гомозиготой. Если мутационные сайты не совпадают, то пораженный ребенок будет составной гетерозиготой – компаундом.

фиброз поджелудочной железы, две одинаковые мутации могут иметь разное происхождение. Другим источником идентичности по происхождению являются изоляты, в которых единичная мутация, привнесенная одним индивидом, со временем становится частой. Примером может служить кожная болезнь, называемая «Mal de Meleda», встречающаяся на острове Млет в Югославии (разд. 6.4.2).

### 3.1.4. X-сцепленные типы наследования

У человека каждый брак можно рассматривать как менделевский бэккросс (возвратное скрещивание) в отношении X- и Y-хромосомы:

		Отцовские гаметы	
		X	Y
Материнские гаметы	X	1/4 XX	1/4 XY
	X	1/4 XX	1/4 XY
Всего		1/2 XX ♀ +	1/2 XY ♂

Это означает, что в среднем мужская и женская зиготы формируются в отношении 1:1. Однако в действительности это не совсем так. Соотношение полов при рождении (известное как вторичное соотношение полов в отличие от первичного соотношения полов при оплодотворении) немного сдвинуто в сторону мальчиков (102–106 мальчиков на 100 девочек). Первичное соотношение полов точно неизвестно, но имеются некоторые данные, что оно также изменчиво. (Опубликовано множество работ по изучению первичного и вторичного соотношения полов. Результаты хромосомных исследований материала аборт, теоретически отражающие первичное соотношение полов, указывают на вероятное наличие равного соотношения мужских и женских эмбрионов. Однако как первичное, так и вторичное соотношение полов зависит от продолжительности периода между половым актом и овуляцией, от частоты

актов, общих условий, включая даже состояние войны и мира. При искусственном оплодотворении доля мужских потомков оказывается существенно выше [704].) Формальные характеристики X-сцепленных типов наследования легко выводятся из механизмов определения пола.

*X-сцепленный рецессивный тип наследования.* Если использовать символ A для обозначения доминантного аллеля нормального дикого типа и символ a для рецессивного аллеля, то возможны следующие браки:

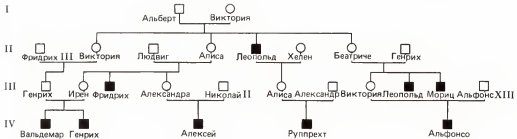
а)  $AA \text{♀} \times A \text{♂}$ . Все дети будут иметь фенотип A. Как этот, так и аналогичный ему брак  $aa \times a$  неинформативны для генетического анализа.

б)  $AA \text{♀} \times a \text{♂}$ . У всех сыновей присутствует один из нормальных материнских аллелей, все они здоровы. Все дочери – гетерозиготы Aa. Они фенотипически здоровы, но являются носительницами аномального аллеля. В аналогичном браке  $aa \text{♀} \times A \text{♂}$  все сыновья поражены (a) и все дочери гетерозиготны (Aa).

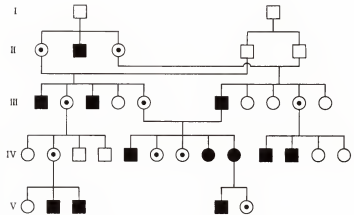
в)  $Aa \text{♀} \times A \text{♂}$ . Этот тип брака наиболее важен для генетического анализа. Все дочери фенотипически нормальны, и половина из них являются гетерозиготными носительницами. Аналогичный брак  $Aa \text{♀} \times a \text{♂}$  встречается очень редко. В этом случае ожидается отношение 1:1 пораженных и гетерозигот среди дочерей и отношение 1:1 пораженных и здоровых среди сыновей.

Основные формальные характеристики X-сцепленного рецессивного наследования следующие. Обычно пораженными являются мужчины, а для редких X-сцепленных заболеваний это справедливо почти всегда. Все их фенотипически здоровые дочери являются гетерозиготными носительницами. Среди сыновей гетерозиготных матерей соотношение пораженных и непораженных 1:1.

Строго говоря, передача признака от пораженных дедов через здоровых матерей пораженным внукам не может служить вполне убедительным доказательством локализации гена в X-хромосоме. Аналогичные рассуждения справедливы и в случае аутосомного гена, проявление которого ограничено мужским полом. Решающим яв-



**Рис. 3.13.** Родословная с X-сцепленной рецессивной гемофилией А в европейских королевских домах. Королева Виктория (I.2) была гетерозиготой. Она передала мутантный ген одному сыну-гемофилику и трем дочерям.



**Рис. 3.14.** Родословная с двумя формами гемофилии, гомозиготными по X-сцепленной гемофилии. Родители — двойные двоюродные сибсы.  $\odot$  — облигатные гетерозиготы [840].

ляется тот факт, что все сыновья пораженных мужчин здоровы. Однако этот критерий не подходит, когда заболевание настолько тяжелое, что больные не могут иметь детей.

Двумя наиболее известными и с практической точки зрения важными примерами являются две формы гемофилии, А и В (30670, 30690). На рис. 3.13 показана знаменитая родословная потомков королевы Виктории в европейских королевских домах. Одним из гемофиликов был царевич Алексей в России. По-видимому, власть Распутина над императорской четой основывалась, по крайней мере частично, на его способности успокаивать царевича. Были описаны родословные и большего размера, вероятно, наиболее обширная из них — с гемофилией В из Тенна (Швейцария). Однако на практике родословные, как правило, много меньше. Часто имеется только одно sibство с пораженными братьями, или вообще больной оказывается единственным по-

раженным в семье. Как и при доминантных заболеваниях (разд. 3.1.2), это вызвано сниженной репродуктивной способностью пораженных, что ведет к элиминации большого количества генов гемофилии в одном или в нескольких последующих поколениях после возникновения новой мутации. Как и следует ожидать, большинство больных гемофилией — мужчины. Однако имеется несколько исключений. На рис. 3.14 показана родословная (из Чехословакии), в которой гемофилик женился на гетерозиготной женщине, прижившейся к нему двойной двоюродной сестрой, поскольку в поколении их родителей двое братьев женились на сестрах. Обе гомозиготные сестры имели гемофилию средней степени тяжести подобно их пораженным родственникам-мужчинам.

Другое X-сцепленное рецессивное заболевание — это синдром Леша-Найхана (30 800) — редкая аномалия метаболизма пуринов, связанная с недостаточностью фермента HGPRT (гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансфераза), ко-

торая приводит к тяжелой гиперурикемии, неврологическим расстройствам и неукротимому стремлению к самоповреждениям (рис. 3.15). Это заболевание послужило моделью для решения многих биохимических и генетических проблем, в частности, была найдена селективная система для идентификации и изоляции *in vitro* мутантных клеток с этим дефектом (разд. 4.2.2.6).

Некоторые X-сцепленные заболевания характеризуются значительной распространенностью. Наиболее часто встречаются дефекты цветового зрения, полиморфные варианты фермента глюкозо-6-фосфат—дегидрогеназы (G6PD) (разд. 4.2), а также X-сцепленная задержка умственного развития с маркерной (ломкой) X-хромосомой (разд. 8.2.1.2).

*X-сцепленный доминантный тип наследования.* X-сцепленное доминантное заболевание проявляется у гемизиготных мужчин и гетерозиготных женщин. Однако все сыновья пораженных отцов и здоровых матерей не несут патологических признаков, здоровы и их дети. С другой стороны, все дочери пораженных отцов поражены. Среди детей пораженных матерей должно наблюдаться тоже сегрегационное отношение 1:1 независимо от пола ребенка, так же как и при аутосомно-доминантном типе наследования. Если пораженные индивиды имеют нормальную репродуктивную способность, то в популяции больные женщины встречаются примерно в два раза чаще, чем больные мужчины. Поскольку лишь дети пораженных отцов дают возможность различить X-сцепленное доминантное и аутосомно-доминантное наследование, в случае малочисленных семейных данных трудно или даже невозможно сделать однозначный вывод о характере наследования.

Первый четкий пример X-сцепленного доминантного типа наследования был описан Сименсом (1925) [871]. Это кожное заболевание (30880), при котором образуется фолликулярный гиперкератоз, что в свою очередь приводит к частичной или полной потере ресниц, бровей и волос на голове (рис. 3.16). Однако тяжелые формы этого заболевания в данной родословной ограничены только мужчинами.

С тех пор для всех признаков с установленным X-сцепленным доминантным на-

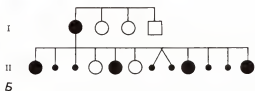
следованием было подтверждено, что в среднем мужчины поражены тяжелее, чем женщины. В этом нет ничего неожиданного, поскольку у гетерозиготных женщин частичная компенсация может определяться нормальным аллелем. Полностью этот факт стал объясним после открытия феномена случайной инактивации одной из X-хромосом у женщин (разд. 2.2.3.3).

Другим примером X-сцепленного доминантного наследования служит устойчивый к витамину D рахит с гипофосфатемией (30780) [958]. В родословной на рис. 3.17 все 11 дочерей пораженных отцов страдали рахитом или гипофосфатемией, тогда как все десять их сыновей были здоровы. Пораженные матери имели как пораженных, так и здоровых сыновей и дочерей. Вероятность того, что такое же распределение (т. е. у пораженных отцов дочери всегда поражены, а сыновья всегда здоровы) может быть получено при аутосомно-доминантном наследовании, меньше чем 1:10000. Кроме того, в этой семье, как правило, мужчины болели тяжелее женщин.

*X-сцепленное доминантное наследование при летальности мужчин-гемизигот.* Как уже отмечалось, у женщин X-хромосомные заболевания обычно имеют менее тяжелые проявления, чем у мужчин. В некоторых случаях поражение мужских зигот оказывается настолько сильным, что они погибают еще до рождения. Тогда в родословных среди пораженных должны быть только женщины, а среди их пораженных детей — только дочери, причем в соотношении со здоровыми дочерьми и сыновьями 1:1:1. Кроме того, мужские гемизиготы, которые не погибают на очень ранней стадии беременности, должны обнаруживаться в спонтанных абортах или среди мертворожденных мальчиков. Ленц (1961) [759] первым показал, что этот тип наследования существует у человека для заболевания, известного под названием *incontinentia pigmenti* (пигментный дерматоз) (Bloch-Sulzberger) (30830).

В перинатальном периоде у девочек, пораженных этим заболеванием, развиваются воспалительный эритематоз и везикулярные кожные поражения. Позже появляется «мраморная» пигментация (рис. 3.18, А). Синдром иногда сочетается с аномалиями зубов. На рис. 3.18, Б показана типичная родословная. Важно, что аутосомно-доминантный тип наследования с проявле-





**Рис. 3.18.** А. Больная с синдромом Блоха-Сульбергера (пигментный дерматоз) (Fuhrmann, 1974 [433]); отчетливо виден мраморный рисунок кожи. Б. Родословная с пигментным дерматозом. • — спонтанный аборт; ● — пигментный дерматоз [759].

нием, ограниченным женским полом, также может рассматриваться как альтернативная гипотеза. Обе эти гипотезы предсказывают следующие соотношения.

а) При аутосомно-доминантном ограниченном полом наследовании (после соответствующей корректировки, разд. 3.3.4) для пораженных и здоровых сестер пробандов ожидается отношение 1:1. Все братья будут здоровы. Если предположить, что в популяции соотношение полов 1:1, то среди здоровых sibсов следует ожидать соотношение полов 2♂:1♀. С другой стороны, при X-сцепленном наследовании ожидаемое количество здоровых братьев намного меньше, поскольку предполагается, что половина мужских зигот погибает до рождения (что, вероятно, ведет к повышению уровня спонтанных абор-

тов). Среди здоровых sibсов ожидается отношение 1♂:1♀.

б) При аутосомно-доминантном наследовании аномальный ген может наследоваться как от отца, так и от матери. Следовательно, и среди более отдаленных родственников как по отцовской, так и по материнской линии можно ожидать пораженных. С другой стороны, при X-сцепленном наследовании ген должен передаваться от матери. В случае очень редкого заболевания среди родственников со стороны отца патологии быть не должно.

в) При аутосомно-доминантном наследовании утрата мутантных генов (в расчете на поколение) должна быть относительно небольшой по сравнению с общим числом этих мутаций в популяции, поскольку здоровые мужчины-носители должны обладать нормальной репродуктивной способностью. Следовательно, при генетическом равновесии (разд. 5.1.3.1) лишь малая доля случаев заболевания в популяции будет связана с новыми мутациями. С другой стороны, при X-сцепленном наследовании утрата зигот должна быть высокой вследствие гибели гемизигот. Следовательно, многие случаи заболевания в популяции должны объясняться новой мутацией, т. е. обширные родословные будут редкими [924].

Имеющиеся статистические данные подтверждают гипотезу об X-сцепленном доминантном наследовании при летальности мужских гемизигот. Кэрри (1976) [613] сообщает о 693 случаях среди женщин и 16 случаях среди мужчин. При этом у 55,4% больных женщин имело место семейное отягощение. Как можно объяснить спорадические случаи у мужчин? Конечно, хорошо известно явление «проход через огонь» (Durchbrenners). Холдрон [696] для обозначения случайно выживших индивидов с летальным генотипом использовал термин «беглецы» (escapers), но Ленн (1975) [760], основываясь на гипотезе Гартлера и Франка (1975) [676], предложил более оригинальное объяснение. По его мнению, мутация затрагивает только одну из цепей двойной спирали ДНК (либо в сперматозоиде, либо в ооците).

К этой же группе можно отнести и некоторые другие заболевания. Одно из них проявляется некоторыми уродствами рта и языка, medianной заячьей губой и синдактилией особого типа (31120) [674]. Другими примерами могут служить очаговая гипоплазия кожи, X-сцепленная пятнистая хондродисплазия, недостаточность орнитинтранскарбамилазы (31125; летальная у новорожденных гемизиготных мальчиков) и частичная липодистрофия с липотрофным диабетом. Судя по опубликованным родословным, такой тип наследования возможен и, например, в

случае специального варианта мышечной дистрофии плечевого пояса [565], [943].

*Гены, локализованные в Y-хромосоме.* До 50-х гг. большинство генетиков были убеждены в том, что Y-хромосома у человека содержит гены, которые изредка мутируют, давая Y-сцепленный (или голландрический) тип наследования с передачей признака от отца сыновьям, т. е. пораженными оказываются только мужчины. Однако Штерн в своем обзоре [897] приводит ряд доказательств того, что священный временем и ставший учебным пример Y-сцепленного наследования тяжелой формы ихтиоза у человека уже не может считаться убедительным. Единственный признак, для которого Y-сцепленное наследование все еще обсуждается, — это волосатые ушные раковины, т. е. наличие волос на внешнем крае уха. Было опубликовано несколько обширных родословных, которые демонстрировали передачу признака от отца сыновьям. Однако поздний возраст проявления (преимущественно в третьем десятилетии жизни), а также крайне изменчивая экспрессивность и высокая популяционная частота (до 30% в некоторых популяциях) весьма затрудняют дискриминацию голландрического наследования от мультифакториального с ограничением по полу. Иначе говоря, для этого признака однозначно принять Y-сцепленное наследование не представляется возможным.

Эйхвальд и др. (1955) [643] описали детерминированный Y-хромосомой трансплантационный антиген у мыши, который они назвали НУ. Авторы предположили, что он является одним из факторов половой дифференцировки, в частности, мужских гонад. В соответствии с гипотезой, высказанной Оно [1248], НУ-антиген экспрессируется во всех клетках мужского организма, но только гонадные клетки имеют НУ-рецептор, связывающий этот антиген. Связанная с рецептором молекула активирует развитие тестикулярной ткани. Для проверки этой важной для понимания механизмов детерминации пола гипотезы были предприняты обширные исследования [1342] (см. разд. 4.7.5).

Анти-НУ-антисыворотка мыши вступа-

ет в реакцию с клетками всех тестируемых до сих пор млекопитающих, включая человека. Даже клетки птиц и амфибий дают перекрестную реакцию. Следовательно, этот антиген в ходе эволюции остается почти неизменным.

### **3.1.5. Родословные, не соответствующие простым типам наследования**

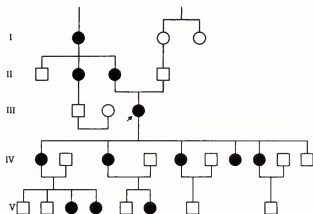
Время от времени публикуются сообщения о родословных, которые трудно согласовать с каким-либо простым типом наследования. Нередко причины этого связаны с ошибками регистрации или документации. Но если и исключить такие случаи, все же остается некоторое число «непонятных» родословных. Одна из них — знаменитая родословная Кюнье с «цветовой слепотой» (рис. 3.19), описанная им еще в 1839 г. [898].

Признак наследовался от одной женщины с цветовой слепотой одиннадцатью потомками женского пола в четырех поколениях. Перепроверка исходных тщательно описанных офтальмологических данных показала, что такое распределение пораженных не согласуется ни с одним из типичных X-сцепленных или аутосомных типов наследования. По-видимому, этот вариант цветовой слепоты являлся частью синдрома, основная особенность которого состояла в легких проявлениях врожденной катаракты. Среди других симптомов отмечены серо-коричневая радужная оболочка глаза и ослабление способности различать красный и синий цвет. Объяснить эту родословную можно на основе различных гипотез, например предположив возможность внеядерного наследования цитоплазматического элемента с экспрессией только у женщин [898].

Иногда публикуются сообщения о несоответствии наблюдаемых сегрегационных отношений ожидаемым из менделевских законов у экспериментальных животных: примером может служить локус T у мыши [568].

У человека в качестве сходного примера упоминается иногда синдром Алпорта (10420) [673]. Однако в последнем случае доказательства не являются достаточно убедительными, поскольку не исключена генетическая гетерогенность.

Необычное наследование характерно и для леберовской атрофии зрительного нерва (30890).



**Рис. 3.19.** Родословная Кюнье. Все женщины (и только женщины) страдают необычной аномалией цветового зрения [898].

Авторы всех сообщений согласны с тем, что это заболевание чаще встречается у мужчин, чем у женщин [767]. Более того, передача от пораженного деда через непораженную мать пораженному сыну, по-видимому, очень редка: синдром почти всегда передается по женской линии. С другой стороны, среди дочерей гетерозиготных женщин пораженные гетерозиготы, по-видимому, встречаются гораздо чаще здоровых. В качестве причины заболевания одно время упоминали дефект митохондриального фермента тиосульфат-сульфотрансферазы [598]. В разд. 2.3.4 мы упоминали уже, что в настоящее время известна полная последовательность митохондриальной ДНК человека и в ней локализованы многие митохондриальные гены, например, почти всех транспортных РНК и ряда ферментов. Упомянутый выше фермент не входит в эту группу, но поскольку это митохондриальный фермент, то вероятно, что какая-то его субъединица кодируется геномом митохондрии, как это установлено для других митохондриальных ферментов. Тип наследования хорошо согласуется с известным фактом материнского наследования митохондрий, особенно если дополнительно предположить неполную пенетрантность, например, за счет фактора случайности в распределении митохондрий по дочерним клеткам. Другим, еще более убедительным, примером митохондриального наследования служит митохондриальная цитопатия [639]. При этом синдроме структурные аномалии митохондрий сочетаются с недостаточностью многих митохондриальных ферментов, что, по-видимому, является следствием структурного дефекта. Клинические симптомы варьируют и могут включать прогрессирующую мышечную слабость, птоз, офтальмоплегия, аномалии центральной и перифери-

ческой нервной системы, клубочковую дисфункцию почек. В цитированном выше исследовании наблюдалась, как правило, материнская передача большинству детей. Однако экспрессивность была крайне вариабельной. Как и при болезни Лебера, имела место неполная пенетрантность. Случайная передача по отцовской линии могла быть следствием хромосомной локализации гена одной из субъединиц фермента.

Другие случаи, в которых предполагается аномальная сегрегация, не столь хорошо документированы. Поскольку в большинстве индустриальных стран семьи с большим количеством детей встречаются все реже, становится все труднее констатировать аномальную сегрегацию мутантных генов.

### 3.1.6. «Летальные факторы» [696]

**Модели на животных.** Мутации с простым типом наследования часто приводят к более или менее тяжелой патологии у носителей этой мутации. Имеются даже факты (разд. 3.1.4), свидетельствующие о том, что некоторые X-сцепленные дефекты обуславливают элиминацию мужских гемизигот до рождения. Можно предположить, что существуют мутации, препятствующие развитию зигот в такой степени, что их выживание становится невозможным.

Впервые летальная мутация у млекопитающих была описана в 1905 г. [615]. Речь шла об очевидном нарушении правил менделевского расщепления при наследовании желтой окраски у мышей. Когда мутантных желтых мышей скрещивали друг с другом, потомство состояло толь-



ко из нормальных серых мышей. Все желтые мыши были гетерозиготами и имели одинаковый генотип  $A^Y/A^+$ , где  $A^Y$  — доминантный аллель «агути», дикий аллель которого обозначен  $A^+$ . Когда гетерозигот  $A^Y/A^+$  скрещивали с гомозиготами  $A^+/A^+$ , в потомстве наблюдали ожидаемое соотношение 1:1 желтых и серых мышей. В 1910 г. было показано, что гомозиготные эмбрионы  $A^Y/A^Y$  начинали формироваться, но затем погибали. Впоследствии удалось установить, что частота аномальных эмбрионов соответствовала ожидаемой 25%.

В описанном случае аллель, летальный в гомозиготном состоянии, можно распознать в гетерозиготе по желтой окраске шерсти. Сходным примером является пельгеровская аномалия лейкоцитов (разд. 3.1.2), правда, в этом случае некоторые гомозиготные кролики выживают.

Случаи такого типа исключительные. Как правило, гетерозиготность по летальному аллелю выявить невозможно. В связи с этим спонтанные летали сложно идентифицировать даже у экспериментальных животных, а тем более у человека. Однако в экспериментах с животными, подвергавшимися мутагенному воздействию, по увеличению числа леталей в потомстве судят о силе использованного мутагена.

Обычно летальная мутация приводит к гибели эмбриона на определенной стадии развития («эффективная летальная фаза», Хадорн [696]). Это легко объяснить, предположив, что именно на этой стадии экспрессия мутантного гена необходима для дальнейшего развития.

*Летали у человека.* Поскольку многие метаболические пути и их ферменты жизненно важны для человека, у нас должно существовать и много различных леталей. Весьма вероятно, что некоторые еще не выявленные ферментные дефекты не совместимы с жизнью зиготы. Кроме того, многие дефекты эмбриональных индукторов (веществ, которые необходимы для нормального эмбрионального развития) и ферментов, участвующих в синтезе нуклеиновых кислот и белков, могут вносить свой вклад в высокую частоту гибели зигот, все еще полностью не объясненную с генетической точки зрения. Разные аспекты этой проблемы

обсуждаются с позиций популяционной генетики (разд. 6.3.2).

Согласно сегодняшним оценкам, около 15–20% всех распознаваемых беременностей у человека заканчиваются спонтанными абортми. Эксперименты с другими млекопитающими показывают, что большое число дополнительных зиготических потерь остается незамеченным, поскольку их гибель наступает еще в период миграции в фаллопиевых трубах. Известно, насколько велика потеря зигот вследствие генетических факторов. Высокая доля потерь обусловлена численными и структурными хромосомными aberrациями (разд. 2.2.4). Однако определенно существуют и другие, чисто материнские причины абортов. Почти безнадежно пытаться оценить долю антенатальных (или даже постнатальных) зиготических потерь за счет аутосомно-доминантных или аутосомно-рецессивных леталей. Представляется более разумным оценивать вклад X-сцепленных леталей, поскольку они влияют на соотношение полов.

В 1923 г. Ленц [757] выдвинул гипотезу о том, что достоверно более высокий уровень смертности мальчиков в возрасте до одного года может быть следствием X-сцепленных леталей. Впоследствии было показано, что в период с 1901 по 1935 г. относительное превышение мужской смертности над женской увеличивалось с уменьшением общей смертности, указывая на «стабильную» (и, возможно, генетическую) компоненту мужской смертности [695]. Более того, в те годы, когда общая смертность возросла, удалось зафиксировать уменьшение превышения мужской смертности над женской. Среди мертворожденных также обнаружено больше мальчиков. Однако в период с 1936 по 1964 г. уровень мертворождений снизился в Англии и Уэльсе более чем на половину. В это же время превышение мужской смертности над женской, которое было опущено вначале, постепенно снижалось и в конце концов сошло на нет. Отсюда следует, что число X-сцепленных леталей было довольно низким и что эти мутации были летальными только в неблагоприятных условиях среды [1650].

Ситуацию с гибелью эмбрионов следует признать еще менее ясной, чем для мертворождений. Важным показателем всегда служит соотношение полов: либо при оплодо-

творении (первичное), либо при рождении (вторичное), а иногда в интервале между ними. Нужно помнить, что на соотношение полов у человека влияют очень многие факторы. Критический обзор на эту тему опубликован в 1967 г. [1650]. Авторы полагают (и мы согласны с ними), что любые выводы относительно частоты летальных мутаций у человека, особенно X-сцепленных, следует делать очень осторожно. Эта рекомендация создает большие трудности, поскольку большинство работ по спонтанному и индуцированному мутагенезу у дрозофилы и мыши основано на оценке именно летальных мутаций. Возможно, что некоторые случаи, о которых сообщается в литературе, можно объяснить действием летальных генов. Например, описано редкое заболевание, связанное с недоразвитием позолысто тела в сочетании с эпилептическими припадками, спазмами стибателей и аномалиями сосудистой и сетчатой оболочек глаза (30405). Оно наблюдалось у 19 новорожденных девочек. Экзогенные причины не выявлены. Очень может быть, что речь идет об X-сцепленной мутации, которая вызывает гибель мужских гемизигот еще до рождения [121].

### 3.1.7. Гены-модификаторы

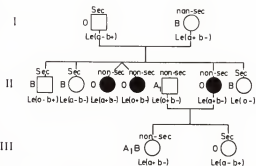
До сих пор мы рассматривали только моногенно контролируемые признаки. Однако на фенотипическое проявление одного гена обычно влияют другие гены. Эксперименты на животных, особенно на млекопитающих, показывают важность генетического фона. Один из способов преодолеть аналитические трудности, связанные с наличием такой изменчивости, состоит в использовании инбредных линий.

Генетический фон — довольно расплывчатое понятие, но в ряде случаев можно показать, что на пенетрантность или экспрессивность определенного гена оказывает влияние другой ген. Когда подразумевается влияние на экспрессивность, то соответствующий ген называют «геном-модификатором». Когда проявление гена подавляется полностью (т.е. он фенотипически не проявляется), используют термин «эпистаз» (или «гипостаз» в отношении подав-

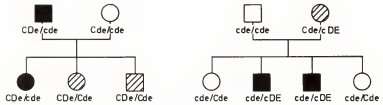
ленного гена). У экспериментальных животных известны случаи, когда взаимодействие двух мутаций по разным локусам приводит к совершенно новому фенотипу. Классическим примером служит взаимодействие генов, определяющих «розовидную» и «гороховидную» формы гребня у кур. В результате такого взаимодействия гомозиготы по обоим мутациям имеют гребни «ореховидной» формы. Насколько нам известно, подобная ситуация у человека не описана, хотя сведения о генах-модификаторах и эпистатических генах публиковались.

*Гены-модификаторы в системе групп крови ABO.* Наиболее детально изучено влияние генов-модификаторов в системе групп крови ABO. Наличие АВН-антигенов в слюне (или других секретах) зависит от секреторного гена *Se*. Рecessивные гомозиготы *se/se* не являются секреторами, гетерозиготы *Se/se* и гомозиготы *Se/Se* — секреторы. Следовательно, *se* — recessивный ген-супрессор. Другие редкие супрессорные гены и вовсе подавляют экспрессию АВН-антигенов на поверхности эритроцитов.

Бхенде и др. (1952) [576] обнаружили фенотип, который они назвали «Bombay» (Бомбей). В этом случае эритроциты не агглютинируются ни одной из антисывороток анти-А, анти-В или анти-Н, хотя сыворотка содержит все три агглютинина. Позже была описана другая семья, в



**Рис. 3.20.** Бомбейский тип антигена В, экспрессия которого подавлена recessивным геном *X* (Blende и др., 1952 [576]). Обратите внимание, что мать (II.6) с группой крови 0 имеет ребенка *A<sub>1</sub>B*.



**Рис. 3.21.** Модификация гомологичным аллелем в системе Rh. ● — D-положительная кровь с нормальной реакцией; ◐ — слабая реакция (D<sup>u</sup>-вариант), ○ — D-отрицательная кровь. Гаплотип Cde снижает экспрессию фактора D, в результате этого формируется фенотип D<sup>u</sup>. [605].

которой носители этого необычного фенотипа имели нормальные ABO-аллели, но их проявление подавлялось. В дальнейшем было показано, что экспрессия антигена A также может быть подавлена, а имеющиеся семейные данные свидетельствуют об аутосомно-рецессивном типе наследования. В родословной, представленной на рис. 3.20, родители пробанда являются двоюродными сибсами.

Описанный локус не сцеплен с ABO. Пара генов обозначается *H*, *h*, гомозигота с фенотипом Бомбей — *h/h*. В зависимости от того, какой аллель подавлен, фенотип обозначают *O<sub>h</sub>A<sub>1</sub>*, *O<sub>h</sub>A<sub>2</sub>* или *O<sub>h</sub>B*. Бомбейский фенотип имеет частоту примерно 1 на 13 000 среди индусов, говорящих на языке махарати и живущих в окрестностях Бомбея. Он распространен также в изоляте на острове Реюньон [679]. По-видимому, признак детерминирован нарушением фермента, модифицирующего общий предшественник в антиген H, который в свою очередь является предшественником антигенов A и B [93; 116; 931]. Предполагается также наличие еще одной пары аллелей *Y<sub>u</sub>*, редкие гомозиготные комбинации которой частично подавляют экспрессию антигена A. Данные о семьях с таким фенотипом опубликованы.

**Гены-модификаторы, ограниченные полом.** Для других, более сложных фенотипов эффекты генов-модификаторов можно выявить статистическими методами.

Холдсён (1941) [697] пытался идентифицировать такие гены при хорее Гентингтона, используя семейные данные [565a]. Харрис (1948) [702a] исследовал ту же проблему при диафизарной атлазии (13370) — заболевании, которое проявляется множественными хрящевыми экзостозами вблизи эпифизарного хряща.

Тип наследования доминантный, однако заболевание встречается примерно в два раза чаще

у мужчин, чем у женщин. В некоторых семьях оно может передаваться через здоровых женщин, но не через здоровых мужчин. Результаты статистического анализа обширных семейных данных, собранных Стоксом и Баррингтоном (1925) [901], позволяют предположить по крайней мере в части семей независимую сегрегацию фактора, определяющего неполную пенетрантность основного гена только у женщин, — ген-модификатор, ограниченный полом.

**Модификация другим аллелем: антиципация (опережение).** Фенотипическое выражение гена может быть модифицировано не только генами других локусов, но и нормальным аллелем. Такой пример дает генетика рецус-фактора (разд. 3.5.4). Некоторые образцы крови при тестировании с сывороткой анти-RhD не дают ни строго положительной, ни строго отрицательной реакции, точнее, дают слабо положительную реакцию. Их называют D<sup>u</sup>. В большинстве случаев этот эффект обусловлен специфическим аллелем, но имеются исключения. В нескольких семьях реакция D<sup>u</sup> наблюдалась только у тех членов семьи, в генотипе которых гомологичный аллель был представлен гаплотипом Cde (рис. 3.21). С помощью дополнительного статистического анализа была показана аллельная модификация при доминантно наследующейся миотонической дистрофии (16090). При этом медленно прогрессирующем заболевании миотония сочетается с относительно мягкой мышечной дистрофией и катарактой. Это заболевание обнаруживает необычную степень варьирования возраста начала. Обследование обширной родослов-

ной, проведенное Беллом (1947) [566], обнаружило следующие особенности. У больных из ранних поколений родословной катаракта проявлялась в середине жизни и часто была единственным патологическим симптомом. С другой стороны, в последующих поколениях часто наблюдалась более тяжелая форма заболевания, с более ранним проявлением.

На первый взгляд эти родословные свидетельствуют о явлении, считавшемся важным в доменделевскую эпоху медицинской генетики, — об антиципации. Существовало представление, что наследственные заболевания начинаются раньше и протекают тяжелее в последующих поколениях. Вайнберг первым показал, что это представление — статистический артефакт. Родословные обычно собираются через пробанда или пробандов в младших поколениях. Однако среди больных в родительском поколении будут зарегистрированы только те, у кого есть дети, и, следовательно, эти родители в большинстве случаев будут иметь более легкую форму заболевания, чем бездетные родители.

Данные по миотонической дистрофии были проанализированы Пенроузом (1948) [836]. Он обнаружил, что корреляция по возрасту начала заболевания между родителями и детьми более низкая ( $r = 0,32$ ), чем между сибсами ( $r = 0,66$ ).

В качестве возможных «причин» антиципации можно рассматривать пять факторов:

1. Отбор пораженных родителей с поздним проявлением заболевания. Только те пораженные, которые достигли взрослого возраста, могут иметь детей.

2. Отбор пораженных детей с ранним проявлением заболевания. Это вполне реальная причина, поскольку в поле зрения медиков попадают обычно только пораженные с клинически выраженными формами заболевания.

3. Отбор случаев с одновременным началом заболевания у родителей и детей вследствие ограниченности во времени клинико-генетических исследований. Смещение за счет этого фактора будет особенно существенным.

4. Любое из упомянутых выше смещений может породить ложную антиципацию, если корреляция по возрасту начала заболевания между родителями и детьми слабая.

5. Общая изменчивость возраста начала заболевания.

Таблица корреляций родитель — ребенок по возрасту начала миотонической дистрофии (табл. 3.2) оказалась несимметричной. Заметно некоторое различие между возрастом начала заболевания у родителей и детей в интервале 20–40

Таблица 3.2. Возраст начала миотонической дистрофии. (Penrose, 1948 [836]). Жирные линии: различие по возрасту начала заболевания между родителями и детьми в интервале 20–40 лет

Дети							
Воз- раст	0	10	20	30	40	50	
50	—	4	3	2	—	—	9
40	8	5	5	—	—	—	18
30	3	9	1	1	—	—	14
20	3	1	—	—	—	—	4
10	2	4	—	—	—	—	6
0	—	—	—	—	—	—	—
Всего	16	23	9	3	—	—	51
Родители							

лет. По-видимому, оно вызвано смещением вследствие регистрации семей с одновременным началом заболевания у родителей и детей. Следовательно, эта таблица предлагает правдоподобное объяснение кажущейся антиципации.

Однако эти данные не объясняют различия в корреляциях по возрасту начала заболевания между родителями и детьми, с одной стороны, и сибсами — с другой. Здесь простейшее объяснение состоит в том, что экспрессивность зависит не только от мутантного аллеля, но и от нормального (рис. 3.22). Этот аллель всегда приходит от непораженного родителя. Следовательно, если модификация целиком вызвана нормальным аллелем, то ожидается, что корреляция родитель — ребенок будет равна 0, тогда как пораженные сибсы с вероятностью 0,5 имеют идентичный по происхождению нормальный аллель. Пенроуз, используя правдоподобные предположения, показал, что полученные корреляции согласуются с ожидаемыми при наличии аллельной модификации.

Более позднее исследование миотонической дистрофии касалось всех семей с этим заболеванием, зарегистрированных в Северной Ирландии в течение определенного периода времени. Здесь результаты Пенроуза подтвердились лишь частично: корреляция родитель — ребенок по возрасту начала заболевания действительно отсутствовала, но только если не учитывали катаракту. Возможно, что модификация нормальным аллелем сказывается на всех проявлениях заболевания, кроме катаракты.



**Рис. 3.22.** Аллельная модификация. Если проявление доминантного аномального гена  $A$  модифицируется нормальным аллелем и если аллель  $a_1$  вместе с  $A$  приводит к тяжелому, а  $a_2$  вместе с  $A$  к более легкому проявлению гена  $A$ , то существует корреляция по степени проявления между пораженными сибсами, но не между пораженными родителем и ребенком. Пораженный ребенок не может получить модифицирующий аллель  $a_2$ .

Другим примером аллельной модификации может служить «ногтенадколенный» синдром (16120) [854]. Однако суммарное количество случаев у человека, где проанализировано взаимодействие генов с хорошо очерченным фенотипическим эффектом, остается небольшим. Ряд примеров, когда анализ оказался возможным на молекулярном уровне, будет обсуждаться при рассмотрении полиморфизма глобиновых генов (разд. 4.3). Несомненно, что анализ влияния взаимодействия разных генов на их фенотипические проявления станет одной из главных задач генетики человека в ближайшем будущем.

### 3.1.8. Количество известных заболеваний человека с простым типом наследования

Многие годы Мак-Кьюсик [133] собирает и документирует заболевания человека с простым типом наследования. Табл. 3.3 основана на шестом издании его книги с более поздними дополнениями. Со времени опубликования третьего издания (1971 г.) количество аутосомно-доминантных признаков (подтвержденных и неподтвержденных) возросло с 943 до 2106, аутосомно-рецессивных – с 783 до 1321, X-сцепленных – со 150

до 267. В каталог включены генетические полиморфизмы (разд. 6.1.2), многие из которых лежат в основе редких наследственных заболеваний. На первый взгляд, список впечатляющий. Однако более детальное его изучение показывает, что наше знание редких заболеваний не настолько хорошо, как должно или могло бы быть. Этому есть несколько причин.

1. Большинство наследственных заболеваний становятся известными благодаря случайным находкам семей с пораженными. Анализ таких семей позволяет ответить на вопрос, является ли обнаруженное редкое заболевание наследственным или нет.

2. Некоторые рецессивные болезни обнаруживаются по их высокой частоте в особых популяциях, берущих свое начало от изолятов. При изучении изолятов исследователи имеют дело с рецессивными заболеваниями, вызываемыми уникальной мутацией. Важно помнить, однако, что только случай определяет, какие гены становятся объектом изучения.

3. Большинство специалистов по антропogenетике и медицинской генетике работают в относительно небольшом числе высокоразвитых стран. Между тем гены редких заболеваний обнаруживают крайне неравномерное распределение по разным популяциям. Это справедливо и для рецессивных болезней, и для аномалий, вызванных доминантной мутацией с нормальной или частично сниженной биологической приспособленностью. Совершенно очевидно,

**Таблица 3.3.** Количество известных признаков с простыми типами наследования у человека. (По McKusick, 1985 [133].)

Тип наследования	Количество признаков	
	Всего	Подтверждение
Аутосомно-доминантный	2106	1096
Аутосомно-рецессивный	1321	611
X-сцепленный	267	119
Всего	3694	1826

что развивающиеся страны Азии, Африки и Латинской Америки насыщены наследственными заболеваниями, которые пока еще не классифицированы. Любой специалист в клинической генетике, который когда-либо лично знакомился с населением, например, индийских деревень, знает, что это утверждение вряд ли является теоретической спекуляцией.

4. Генетические дефекты с простыми типами наследования имеют высокую вероятность оказаться выявленными, если они обнаруживают четко очерченный и легко распознаваемый фенотип. Вот почему наследственные заболевания кожи и глаз относительно хорошо известны, в то же время большинство скрытых дефектов в настоящее время еще не изучено.

5. Реальную значимость наследственных болезней можно установить, только исследуя большие популяции и используя для этого эпидемиологический подход. Такие исследования предоставляют благоприятную возможность выявить этиологическую гетерогенность и оказать помощь в дискриминации генетических и негенетических случаев. Они дают естественную основу для оценки таких генетических параметров, как мутационные уровни, биологические приспособленности и относительная частота «легких» и «тяжелых» мутационных форм одного и того же гена. Эпидемиологические исследования помогают в предсказании долговременных эффектов медицинской терапии, необходимы они и для генетического консультирования. Многие работы по эпидемиологии наследственных болезней были выполнены в 40–50-х гг. Ведущая роль в этом принадлежала нескольким институтам. Среди них выделялся институт Кемпа в Копенгагене. Здесь был разработан генетический регистр датской популяции, а на его основе проведены исследования некоторых наследственных заболеваний, таких, как ахондроплазия (10080), поликистоз почек (17390), пороки развития и т. п.

Активные группы работали в Северной Ирландии и в США (шт. Мичиган). Исследования проводились также в Великобритании, Швеции, Финляндии, Швейцарии и ФРГ. По современным меркам многие ра-

боты того времени кажутся несовершенными, хотя все, что мы знаем о частоте, разных генетических формах, уровнях мутаций и биологических приспособленностях, известно именно с тех времен. С открытием в конце 50-х гг. первых хромосомных аномалий у человека усилия генетиков, занимающихся эпидемиологией наследственных заболеваний, ослабли. Лишь несколько групп продолжают активно придерживаться этой линии исследований. Нам кажется, что пришло время, когда специалисты в области генетики человека снова должны вернуться к полевым исследованиям, сочетая различные лабораторные методы с методами формальной генетики, мутационными исследованиями и эпидемиологией.

*Существуют ли различия в относительных частотах доминантных и рецессивных заболеваний у человека и животных?* На первый взгляд такие различия должны существовать. У экспериментальных животных больше всего мутаций описано для *Drosophila melanogaster*: 200 из них рецессивные и только 13 (6,1%) доминантные. У кур известно 40 рецессивных и 28 доминантных мутаций. У мыши только 17 из 74 мутантов доминантные (23%), а остальные рецессивные. У кролика найдено 32 рецессивных и 6 доминантных мутаций. С другой стороны, у человека известно больше доминантных мутаций, чем рецессивных (табл. 3.3). Возможно, что это несоответствие обусловлено природой диагностического процесса. Человек обследует себя наиболее тщательно и потому выявляет дефекты, которые, вероятно, выпадают из поля зрения исследователей при изучении экспериментальных животных. Например, трудно было бы установить брахидактилию у мыши, хотя в гомозиготном состоянии эта аномалия сочетается с гораздо более тяжелыми нарушениями (разд. 3.1.1). Следовательно, такой дефект, доминантный у человека, считался бы рецессивным у мыши. Другая причина может состоять в том, что популяции развитых стран в отношении рецессивных генов не являются равновесными. Частота кровнородственных браков резко снижена, и поэтому вероятность встречи рецес-

сивного гена с идентичным партнером с образованием гомозиготы в таком обществе уменьшается. Новое равновесие будет достигнуто только в очень отдаленном будущем, когда рецессивные гены снова станут достаточно частыми (разд. 6.3.1.2). По нашему мнению, нет серьезных оснований предполагать, что по соотношению доминантных и рецессивных мутаций человек уникален.

### 3.2. Закон Харди—Вайнберга и его приложения

#### 3.2.1. Формулировка и вывод закона

До сих пор применение законов Менделя к наследованию признаков у человека мы рассматривали с точки зрения изучения отдельных семей. Каковы, однако, следствия из этих законов для генетической структуры популяций? Область науки, в которой решаются такие проблемы, называется популяционной генетикой. Ей посвящена глава 6, но некоторые основные понятия будут введены уже в этом разделе.

Закон Харди—Вайнберга был сформулирован в 1908 г. независимо двумя этими авторами [252; 289]. Следует заметить, что еще в 1904 г. Пирсон [833], пытаясь применить менделевские правила к количественным признакам, говорил об этой закономерности для специального случая равных частот двух аллелей.

Закон Харди—Вайнберга в его наиболее общей форме может быть сформулирован следующим образом. Пусть в определенной популяции частоты двух аллелей  $A$  и  $B$  равны соответственно  $p$  и  $q$  ( $p + q = 1$ ). Пусть также скрещивание и репродукция по этому локусу случайны. Тогда частоты аллелей будут оставаться постоянными, а относительные частоты генотипов  $AA$ ,  $AB$  и  $BB$  будут соответственно  $p^2$ ,  $2pq$  и  $q^2$ , т. е. членами разложения биномиального выражения  $(p + q)^2$ . Для аутосомных генов при отсутствии каких-либо нарушений указанных условий эта пропорция сохраняется во всех последующих поколениях.

**Вывод закона Харди—Вайнберга.** Предположим, что вначале доли генотипов  $AA$ ,  $AB$

и  $BB$  в мужской и женской популяциях равны  $D$ ,  $2H$  и  $R$  соответственно. Формально распределение генотипов для обоих полов может быть записано так:

$$D \times AA + 2H \times AB + R \times BB. \quad (3.1)$$

Отсюда распределение генотипических комбинаций брачных пар при случайном скрещивании получается формальным возведением в квадрат:

$$(D \times AA + 2H \times AB + R \times BB)^2 = D^2 \times AA \times AA + 4DH \times AA \times AB + 2DR \times AA \times BB + 4H^2 \times AB \times AB + 4HR \times AB \times BB + R^2 \times BB \times BB.$$

Распределение генотипов среди детей в браках разного типа будет

$$\begin{array}{ll} AA \times AA & AA \\ AA \times AB & \frac{1}{2} AA + \frac{1}{2} AB \\ AA \times BB & BB \\ AB \times AB & \frac{1}{4} AA + \frac{1}{2} AB + \frac{1}{4} BB \\ AB \times BB & \frac{1}{2} AB + \frac{1}{2} BB \\ BB \times BB & BB \end{array}$$

Подстановка этих распределений в уравнение (3.1) дает распределение генотипов в поколении  $F_1$ :

$$(D^2 + 2DH + H^2)AA + (2DH + 2DR + 2H^2 + 2HR)AB + (H^2 + 2HR + R^2)BB = p^2 AA + 2pq AB + q^2 BB,$$

где  $p = D + H$  и  $q = H + R$  — частоты аллелей  $A$  и  $B$  соответственно в поколении родителей. Таким образом, распределение генотипов в поколении детей однозначно определяется частотами аллелей в родительском поколении:

$$D' = p^2, \quad 2H' = 2pq, \quad R' = q^2.$$

Так как

$$p' = D' + H' = p^2 + pq = p,$$

$$q' = H' + R' = pq + q^2 = q,$$

то частоты аллелей в поколении  $F_1$  равны таковым в родительском поколении. Таким образом, генотипическое распределение в следующем поколении ( $F_2$ ) будет таким же, как в  $F_1$ , и это справедливо для всех последующих поколений.

Это означает, что при аутосомном наследовании указанные соотношения, ожидаемые в первом поколении, будут сохра-

няться и в последующих поколениях. Для Х-сцепленных генов ситуация несколько сложнее (разд. 6.1.1).

Закон Харди—Вайнберга может быть переформулирован также с акцентом на то, что случайное скрещивание эквивалентно осуществлению случайного выбора каких-то двух генов из общего пула, содержащего два аллеля  $A$  и  $a$  с относительными частотами  $p$  и  $q$ . Одно из достоинств этого закона заключается в том, что частоты контролируемых генами признаков можно выразить и сравнивать в разных популяциях в терминах генных частот.

Помимо возможного упрощения описания популяций закон может также помочь уточнению типа наследования в тех случаях, когда прямой подход на основе семейных исследований оказывается слишком трудным. Классический пример этого — группы крови АВО.

### 3.2.2. Соотношения Харди—Вайнберга доказывают генетическую основу групп крови системы АВО

**Множественный аллелизм.** До сих пор мы рассматривали в каждом локусе только два разных аллеля. Однако часто встречаются ситуации когда локус может быть представлен более чем двумя аллелями. Примеры такого «множественного аллелизма» описаны и для людей, и для экспериментальных животных. Наиболее известны среди них — серия аллелей локуса *white* у *Drosophila melanogaster* и серия альбино-локуса у кроликов.

Важно помнить, что

а) любой индивид может иметь максимум два аллеля из серии (если у него две гомологические хромосомы, а, например, не три, как у трисомиков);

б) кроссинговер между этими аллелями может не учитываться, поскольку они расположены в гомологичных локусах. С уточнениями этого второго условия мы будем иметь дело в разд. 3.5 в связи с обсуждением современных концепций гена. Здесь же будет описана простейшая формальная модель на примере групп крови АВО.

**Генетика групп крови АВО.** Группы крови АВО были открыты в 1900 г. Ландштейнером [259].

**Таблица 3.4.** Сравнение двух гипотез о наследовании групп крови АВО. (По Wiener A. S, 1943, с изменениями.)

Генотипы родителей	Генотипы детей, ожидаемые в соответствии с гипотезой	
	двух разных диаллельных генах	множественных аллелях одного локуса
$O \times O$	$O$	$O$
$O \times A$	$O, A$	$O, A$
$O \times B$	$O, B$	$O, B$
$A \times A$	$O, A$	$O, A$
$A \times B$	$O, A, B, AB$	$O, A, B, AB$
$B \times B$	$O, B$	$O, B$
$O \times AB$	$O, A, B, AB$	$A, B$
$A \times AB$	$O, A, B, AB$	$A, B, AB$
$B \times AB$	$O, A, B, AB$	$A, B, AB$
$AB \times AB$	$O, A, B, AB$	$A, B, AB$

Несчастные случаи, имевшие место при переливании крови, заставили задуматься над причиной и тем самым способствовали открытию системы АВО. Первая разумная генетическая теория предложена фон Дунгерном и Гиршфельдом (1911) [63]. Для объяснения четырех фенотипов  $A$ ,  $B$ ,  $O$  и  $AB$  они предположили наличие двух независимых пар генов ( $A, O$ ;  $B, O$ ), где  $A$  и  $B$  — доминантные аллели. Бернштейн (1925) [574] проверил эту гипотезу, используя прежде всего соотношения, ожидаемые из закона Харди—Вайнберга. Он пришел к выводу об ошибочности их концепции и предложил правильное объяснение — три аллеля с шестью генотипами и четырьмя фенотипами вследствие доминирования аллеля  $A$  и  $B$  над аллелем  $O$ .

Наиболее очевидный способ проверки этих гипотез — обратиться к семейным исследованиям. Однако различия между этими двумя гипотезами ожидаются только для тех браков, в которых по крайней мере один из родителей имеет группу  $AB$  (табл. 3.4): двухлокусная диаллельная модель допускает в таких браках наличие детей с группой  $O$ , а трехаллельная монолокусная — нет. Хотя группа  $AB$  самая редкая, в литературе уже публиковались сообщения о детях с группой крови  $O$  у родителей с группой  $AB$  (либо группа крови в таких случаях неправильно диагностирована, либо дети висбракные). Однако эти наблюдения не ввели Бернштейна в заблуждение. Его рассуждения были следующими. Предположим, что справедлива теория двух генов. Пусть  $p$  будет частотой аллеля  $A$  ( $1 - p = p'$  частота



аллеля а) и  $q$ -частотой аллеля В ( $1 - q = q'$  - частота аллеля b). Тогда в популяции следует ожидать такие относительные частоты генотипов и фенотипов:

Фено- тип	Генотип	Частота
0	aabb	$(1 - p)^2(1 - q)^2 = p'^2 q'^2$
В	aaBB	$(1 - p)^2 q^2$
	aABb	$2(1 - p)^2 q(1 - q) \left. \vphantom{\begin{matrix} (1 - p)^2 q^2 \\ 2(1 - p)^2 q(1 - q) \end{matrix}} \right\} = p'^2(1 - q'^2)$
А	AAbb	$p^2(1 - q)^2$
	Aabb	$2p(1 - p)(1 - q)^2 \left. \vphantom{\begin{matrix} p^2(1 - q)^2 \\ 2p(1 - p)(1 - q)^2 \end{matrix}} \right\} = (1 - p'^2)q'^2$
AB	AABB	$p^2 q^2$
	AaBB	$2p(1 - p)q^2$
	AAABb	$2p^2 q(1 - q) = (1 - p'^2)(1 - q'^2)$
	AaBb	$2p(1 - p)2q(1 - q)$

Это ведет к таким соотношениям ( $\overline{A}$ ,  $\overline{B}$  - частоты фенотипов):

$$\overline{O} \times \overline{AB} = \overline{A} \times \overline{B}$$

и

$$\overline{A} + \overline{AB} = 1 - p'^2; \quad \overline{B} + \overline{AB} = 1 - q'^2,$$

которые дают

$$(\overline{A} + \overline{AB}) \times (\overline{B} + \overline{AB}) = \overline{AB}.$$

Это равенство можно проверить. Оказалось (и с тех пор все время подтверждается), что  $(\overline{A} + \overline{AB}) \times (\overline{B} + \overline{AB}) > \overline{AB}$  и  $\overline{O} \times \overline{AB} < \overline{A} + \overline{B}$ . Различия настолько велики (и так убедительны), что их невозможно объяснить случайными отклонениями. Первой альтернативой, рассмотренной Бернштейном, было предположение о гетерогенности изучаемой популяции. Однако это объяснение оказалось недостаточным. С другой стороны, легко показать, что генотипические распределения во всех популяциях, для которых имелись данные, находились в прекрасном согласии с соотношениями, ожидаемыми на основе мультиаллельной монокусовой гипотезы.

Чтобы понять рассуждения Бернштейна, следует по-новому взглянуть на закон Харди-Вайнберга. Он был выведен нами для специального случая двух аллелей. Однако можно показать, что этот закон применим и ко многим аллелям. Если обозначить частоты  $n$  аллелей как  $p_1, p_2, \dots, p_n$ , то относительные частоты генотипов задаются разложением  $(p_1 + p_2 + \dots + p_n)^2$ . Для конкретного случая аллелей А, В, и О с частотами  $p, q$  и  $r$

отсюда следует, что распределение генотипов имеет вид

$$p^2(AA) + 2pq(AB) + 2pr(O) + q^2(BB) + 2pr(BO) + r^2(OO).$$

Для четырех классов фенотипов

$$\overline{O} = \overline{OOB} = \overline{BO} + \overline{BB} \quad \overline{A} = \overline{AO} + \overline{AA} \quad \overline{AB} = \overline{AB}$$

можно получить следующие вероятности:

$$r^2 \quad 2qr + q^2 \quad 2pr + p^2 \quad 2pq.$$

Отсюда следует

$$\overline{O} + \overline{A} = (r + p)^2,$$

$$\overline{O} + \overline{B} = (r + q)^2,$$

поэтому

$$q = 1 - \sqrt{\overline{O} + \overline{A}},$$

$$p = 1 - \sqrt{\overline{O} + \overline{B}},$$

$$r = \sqrt{\overline{O}}$$

и справедливо соотношение

$$1 = p + q + r = 1 - \sqrt{\overline{O} + \overline{B}} + 1 - \sqrt{\overline{O} + \overline{A}} + \sqrt{\overline{O}}.$$

Это равенство можно проверить, используя распределения фенотипов АВО в различных популяциях мира. Критерием служит равенство сумме аллельных частот, вычисленных по приведенной выше формуле. Кроме того, на основе получаемых частот аллелей можно вычислить ожидаемые частоты генотипов и сравнить их с наблюдаемыми. Помимо корректности самой генетической гипотезы этот результат подлежит проверке на выполнение другого условия: в популяции по изучаемому признаку должно быть случайное скрещивание (панмиксия).

Для данных, анализированных Бернштейном, уже было получено превосходное соотношение, и это подтвердилось для огромного количества накопленных с тех пор материалов. Для понимания принципа вычисления приведем один пример. В Берлине были найдены следующие фенотипические частоты групп крови.

Все лица (n)	A	B	0	AB
21 104	9 123 (43,23%)	2 987 (14,15%)	7 725 (36,60%)	1 269 (6,01%)

По формуле Бернштейна получаем частоты аллелей:

$$\begin{aligned} p &= 1 - \sqrt{(0,3660 + 0,1415)} = 0,2876 \\ q &= 1 - \sqrt{(0,3660 + 0,4323)} = 0,1065 \\ r &= \sqrt{0,3660} = 0,6050 \\ &\quad 0,9991 \end{aligned}$$

Итак,  $p + q + r = 0,9991$ .

На первый взгляд этот результат хорошо согласуется с ожидаемым значением 1. В качестве статистического критического критерия для тестирования значимости отклонения можно использовать метод хи-квадрат [625]:

$$\chi^2 = 2n(1 + \frac{r}{pq})D^2,$$

$$D = 1 - (p + q + r).$$

В нашем примере  $\chi^2 = 0,88$ , что явно меньше граничного значения  $\chi^2 = 3,84$  при одной степени свободы (для 5%-ного уровня значимости). Следовательно, подтверждается, что найденные значения хорошо согласуются с генетической гипотезой и с предположением о случайном скрещивании для системы ABO.

Позже Бернштейн показал, каким образом разность  $D$  можно использовать для коррекции вычисленных частот аллелей. Если обозначить неоправленные частоты  $p'$ ,  $q'$  и  $r'$ , то можно применить следующие формулы:

$$p = p'(1 + D/2),$$

$$q = q'(1 + D/2),$$

$$r = (r' + D/2)(1 + D/2),$$

что в нашем случае дает

$$p = 0,2876(1 + 0,00045) = 0,2877,$$

$$q = 0,1065(1 + 0,00045) = 0,1065,$$

$$r = (0,6050 + 0,00045)(1 + 0,00045) = 0,6057.$$

В процессе тестирования двух гипотез о наследовании групп крови ABO Бернштейн разработал методы вычисления частот аллелей. Эти методы приобрели практическое значение и будут подробно рассмотрены нами отдельно (приложение I).

**Значение равновесия Харди-Вайнберга.** Если наблюдаемые доли генотипов в популяции соответствуют ожидаемым из закона Харди-Вайнберга, то говорят, что популяция находится в равновесии Харди-Вайнберга. Такое равновесие следует отличать от равновесия между аллелями, которое будет рассматриваться при обсуждении отбора (разд. 6.2.1) и мутаций (разд. 5.1.3). Равно-

весие Харди-Вайнберга – это равновесие распределения генов в популяции (пула генов) между разными генотипами. Если равновесие было нарушено какими-либо силами, то при случайном скрещивании оно восстановится за одно поколение. Следует помнить, однако, что закон Харди-Вайнберга справедлив при следующих условиях.

1. Скрещивания в отношении изучаемых фенотипов должны быть случайными. Это условие можно уверенно считать выполняющимся для таких признаков, как группа крови или полиморфные ферменты. Но вряд ли оно справедливо для морфологических признаков, таких, как рост, а тем более для поведенческих, таких, как интеллект. Об этом необходимо помнить, когда используемые в количественной генетике меры сходства, например корреляции между родственниками, интерпретируются в генетических терминах.

2. Отклонение от случайного скрещивания может быть вызвано, в частности, кровнородственными браками: если в популяции высокий уровень кровного родства, то следует ожидать увеличения количества гомозигот (разд. 6.3.1). Можно даже вычислить частоту кровнородственных браков в популяции на основе отклонений от соотношений Харди-Вайнберга.

3. Соотношения Харди-Вайнберга могут быть нарушены недавними миграциями.

4. Иногда в качестве фактора, нарушающего соотношение Харди-Вайнберга, упоминается отбор. Это справедливо, но не обязательно. Как правило, отбор изменяет генные частоты. Однако отбор, действующий до репродуктивного возраста, например в пренатальном периоде или позже, включая детство и юность, совсем не влияет на соотношения Харди-Вайнберга у взрослых. Отклонения могут наблюдаться в субпопуляции детей в зависимости от конкретного типа отбора. Кроме того, даже при сильном отборе в соответствующей возрастной группе регистрация статистически значимых отклонений от соотношений Харди-Вайнберга требует выборки большого объема – больше, чем обычно имеется в распоряжении исследователя. Иногда вывод об отсутствии значимого отбора фор-

мулируется исходя из наблюдаемого соответствия популяции соотношениям Харди-Вайнберга. Однако такой вывод, если он тщательно не проверен, легко может оказаться ошибочным. Рассматривая все теоретические возможности нарушения соотношений, поражаешься тому, как часто в человеческих популяциях выполняется соотношение Харди-Вайнберга.

5. Формально отклонение от закона Харди-Вайнберга может наблюдаться в том случае, если популяция представляет собой смесь субпопуляций, лишь частично скрещивающихся между собой (случайное скрещивание происходит только внутри субпопуляций, и, следовательно, генные частоты в этих субпопуляциях различны). Впервые на это указал Валунд (1928) [929], который вывел формулу для вычисления коэффициента инбридинга  $F$  на основе дисперсий генных частот между субпопуляциями.

6. Другой причиной отклонения может служить существование пока не выявленного («немного») аллеля, в связи с чем гетерозиготные носители этого аллеля неотличимы от гомозигот по обычному аллелю.

Однако Смит (1970) [879] указал, что генетически немой аллель может вызывать значимое отклонение от закона Харди-Вайнберга только тогда, когда гомозиготы по этому аллелю имеют частоту, достаточно высокую, чтобы быть выявленными.

### 3.2.3 Генные частоты

*Одна пара генов — два фенотипа.* Редкие аутосомно-рецессивные заболевания контролируются только одной парой генов, и обычно известны только два фенотипа: гетерозиготы либо не идентифицируются, либо, что много чаще, данные о популяционных частотах гетерозигот отсутствуют. Это справедливо для тех систем групп крови, для которых имеется только один тип сыворотки. В этом случае частота гомозигот  $aa$  равна  $q^2$ , а частота гена просто  $\sqrt{aa}$ . При этом нет способа проверить предположение о случайности скрещиваний. Практически важным является результат высокой частоты гетерозигот даже для относительно редких рецессивных заболеваний.

В табл. 3.5, представленной в несколько упрощенном виде, некоторые приведенные

**Таблица 3.5.** Частоты гомозигот и гетерозигот при разных генных частотах (с примерами рецессивных признаков). (По Lenz [121].)

Частота гомозигот $q^2$	Частота гена $q$	Частота гетерозигот $2pq$	Фенотип
0,64	0,8	0,32	Lp(a')-вариант липопротеина
0,49	0,7	0,42	Ацетилтрансфераза, «медленный» вариант
0,36	0,6	0,48	Группа крови 0
0,25	0,5	0,50	Несекретор (se/se)
0,16	0,4	0,48	Резус-отрицательный (dd)
0,09	0,3	0,42	
0,04	0,2	0,32	Le(a'-b)-отрицательный
0,01	0,1	0,18	
Примерные частоты в европейских популяциях			
1: 2500	1: 50	1: 25	Псевдохолинэстераза (дибукаин-устойчивый вариант), кистозный фиброз, недостаточность $\alpha_1$ -антитрипсина
1: 4900	1: 70	1: 35	Адреногенитальный синдром (кантон Цюриха)
1: 10 000	1: 100	1: 50	Фенилкетонурия (Швейцария, США)
1: 22 500	1: 150	1: 75	Альбинизм, адреногенитальный синдром (с нарушением водно-солевого обмена)
1: 40 000	1: 200	1: 100	Цистинурия
1: 90 000	1: 300	1: 150	Мукополисахаридоз, тип I
1: 1 000 000	1: 1000	1: 500	Афибриногенемия

частоты варьируют от популяции к популяции (разд. 6.1.3). Однако эти данные показывают, насколько часто встречаются гетерозиготы, особенно для редких заболеваний. Это важно для медико-генетического консультирования, а также для часто обсуждаемой проблемы – по какому числу летальных или вредных генов в среднем может быть гетерозиготен человек (разд. 6.3.2). Методы вычисления генных частот описаны в приложении 1.

### 3.3 Статистические методы формальной генетики: анализ сегрегационных отношений

#### 3.3.1. Сегрегационные отношения как вероятности

В ходе мейоза при отсутствии каких-либо нарушений различные гаметы образуются в точно таких относительных пропорциях, какие ожидаются из законов Менделя. Из диплоидного гетерозиготного сперматоцита с аллелями *A* и *a* образуются гаплоидные сперматозоиды: два с аллелем *A* и два с аллелями *a*. Если бы все сперматозоиды данного мужчины участвовали в оплодотворении и если бы ни одна из зигот не погибла до рождения, то сегрегационное отношение среди его потомства было бы в точности 1:1.

Существуют организмы, например дрожжи или плесень *Neurospora crassa*, у которых можно проводить анализ непосредственно гаплоидных клеток. В развитии такого организма есть стадия, на которой все четыре гаплоидных продукта мейоза располагаются в регулярной последовательности. Каждый из них можно изолировать, вырастить и проанализировать отдельно от остальных (тетрадный анализ). Наблюдаемые сегрегационные отношения в этом случае точно соответствуют ожидаемым.

Возможность осуществлять тетрадный анализ и относительная простота манипулирования сделали дрожжи важным объектом исследований по биохимической генетике.

У высших растений и животных, включая человека, только ничтожная выборка

всех гамет участвует в оплодотворении. У женщин образуется около  $6,8 \cdot 10^6$  ооцитов, количество сперматогонияльных стволовых клеток у мужчин оценивается примерно в  $1,2 \cdot 10^9$  (разд. 5.1.3.3). Действительное количество сперматозоидовкратно этому числу. Следовательно, конкретная гамета имеет очень малую вероятность участия в оплодотворении. Кроме того, в отношении пары генов *A* и *a* процесс выбора обычно случаен (кроме очевидных исключений, описанных в разд. 3.1.5). Это означает, что распределения генотипов среди участвующих в оплодотворении гамет подчиняются законам теории вероятностей, и эмпирически найденные сегрегационные отношения могут отклоняться от ожидаемых.

Современный человек даже при решении своих житейских проблем размышляет в той или иной степени в статистических терминах. Эти упражнения помогают в понимании простейших приложений теории вероятности. Например, каждый легко поймет, что приводимые ниже «разумные» рассуждения ошибочны.

Одна женщина всегда хотела, чтобы у нее было четверо детей. Однако после рождения третьего ребенка она решила больше детей не иметь. На вопрос матери о том, почему она переменила свои планы, дочь ответила: «Мне хотелось бы иметь четвертого ребенка, но в газете написано, что каждый четвертый ребенок на Земле – китаец, а желтого ребенка я иметь не хочу».

В другом примере ошибка не так очевидна. Здоровые родители, двое детей которых страдали альбинизмом, обратились к врачу, чтобы узнать вероятность того, что их третий ребенок тоже окажется альбиносом. Врач знает, что альбинизм – это аутосомно-рецессивное заболевание, при котором ожидаемое сегрегационное отношение здоровых и больных среди детей гетерозиготных родителей равно 3:1. Он знает также, что сибства, в которых все дети поражены, крайне редки. Поэтому он говорит родителям: «Поскольку двое ваших детей альбиносы, вероятность того, что третий ребенок также будет поражен, очень мала. Следующий ребенок должен быть здоровым». Однако на самом деле риск остается равным 1/4, как и для первых детей.

Изложение теории вероятностей и основ математической статистики не является за-

дачей учебника по генетике человека. Мы считаем, что читатель знаком с некоторыми основными понятиями теории вероятностей, что ему известны наиболее важные типы распределений (биномиальное, нормальное и пуассоновское) и стандартные статистические методы. Ниже мы рассмотрим некоторые приложения этих подходов к генетике человека. Если все-таки ваших знаний по статистике не достаточно для того, чтобы использовать этот раздел осознанно, а не как «поваренную книгу», советуем вам предварительно ознакомиться с первыми главами книги Феллера «Введение в теорию вероятностей и ее приложения» [659].

### 3.3.2. Простые вероятностные проблемы в генетике человека

*Независимые события и прогноз при медико-генетическом консультировании.* Врач, давший ошибочный прогноз супружеской паре с двумя детьми-альбиносами, не принял в расчет, что зачатия каждого из трех детей — это независимые друг от друга события и что каждый ребенок имеет вероятность  $1/4$  оказаться пораженным безотносительно к генотипам других детей. Однако, чтобы узнать вероятность события, что три ребенка одновременно будут поражены, вероятности для каждого ребенка нужно перемножить. Он был прав, когда говорил, что при рецессивном заболевании вероятность иметь трех больных детей мала. Действительно, она составляет  $(1/4)^3 = 1/64$ . Однако в консультируемой семье уже было двое таких детей, и вероятность этого события  $(1/4)^2 = 1/16$ . Теперь нужно лишь добавить еще одно независимое событие с вероятностью  $1/4$ , чтобы получить семью с тремя пораженными детьми, которая будет иметь вероятность  $1/16 \cdot 1/4 = 1/64$ . Интуитивно очевидно также, что никакая зигота не может влиять на выборку гамет своих родителей много лет спустя. Случай не имеет памяти!

Все возможные комбинации пораженных и непораженных детей в трехдетных семьях можно перечислить следующим образом ( $A$  — пораженный,  $U$  — непоражен-

ный):

$UUU, AUU, UAU, AAU, UUA, AUA, UAA, AAA$ .

При рецессивном наследовании событие  $U$  имеет вероятность  $3/4$ . Поэтому первая из восьми комбинаций ( $UUU$ ) имеет вероятность  $(3/4)^3 = 27/64$ . Это означает, что из всех гетерозиготных супружеских пар, имеющих трех детей,  $27/64$  (или чуть меньше 50%) будут иметь только здоровых детей. С другой стороны, все трое детей будут пораженными в  $(1/4)^3 = 1/64$  таких семей. Остаются промежуточные группы. Трехдетные семьи с одним пораженным и двумя здоровыми детьми, очевидно, имеют вероятность  $1/4 \cdot 3/4 \cdot 3/4 = 9/64$  каждая. Однако, если нас не интересует порядок рождения здоровых и больных детей, то семьи  $UUA, UAU$  и  $AUU$  для нас неразличимы, что дает суммарно  $3 \cdot 9/64 = 27/64$ . Группа семей с двумя пораженными и одним здоровым ребенком рассматривается аналогично, и ее вероятность составляет  $3 \cdot 1/4 \cdot 1/4 \cdot 3/4 = 9/64$ . Для проверки давайте посмотрим, дадут ли все эти вероятности в сумме 1:

$$\frac{27 + 27 + 9 + 1}{64} = 1.$$

Это частный случай биномиального распределения. Для менделевских сегрегационных отношений важно указать два следствия: одно теоретическое, а другое сугубо практическое. Во-первых, отсюда вытекает, что среди всех семей, для которых ожидается конкретное сегрегационное отношение, определенная часть (27 из 64 в трехдетных семьях при рецессивном наследовании) не попадает в поле нашего зрения, поскольку им выпал счастливый случай не иметь пораженных гомозигот. Следовательно, сегрегационное отношение среди остальных семей систематически искажено. Для исправления этого «искажения» (смещения) вследствие регистрации) разработаны специальные методы (разд. 3.3.3). Второе, чисто практическое, следствие связано с ограничением рождаемости в таких семьях (в них не больше двух или трех детей): родители, будучи гетерозиготными

по рецессивному мутантному гену, не хотят иметь более одного пораженного ребенка. А поскольку вероятность для пораженного ребенка оказаться в другой ветви такой семьи очень низка (учитывая, что уровень кровного родства в современном обществе также снижается), то почти все пораженные дети будут единственными, т.е. среди многих здоровых членов семьи, как правило, лишь один пораженный. В результате установить рецессивный характер наследования окажется достаточно трудно. Тем не менее для каждого следующего ребенка риск снова составит  $1/4$ . Неспециалист может не знать, что данный признак наследуется. Следовательно, этим семьям должна быть предоставлена активная помощь медико-генетической консультации.

*Дифференциация типов наследования.* В разд. 3.1.1 была приведена родословная с X-сцепленным доминантным признаком — устойчивым к витамину D рахитом с гипофосфатемией (рис. 3.17). Какова вероятность такой родословной, если на самом деле ген расположен в какой-либо аутосоме? Информативны только дети пораженных отцов, потому что среди детей пораженных матерей следует ожидать сегрегационное отношение 1 : 1 независимо от пола. Семь пораженных отцов имеют 11 дочерей, и все они больны. Вероятность такого события при аутосомном наследовании была бы  $(1/2)^{11}$ . Те же отцы имеют 10 здоровых сыновей, что дает вероятность  $(1/2)^{10}$ . Следовательно, совместная вероятность 11 пораженных дочерей и 10 здоровых сыновей равна

$$(1/2)^{21} = \frac{1}{2\,097\,152}.$$

Эта вероятность настолько мала, что альтернативная гипотеза об аутосомно-доминантном типе наследования убедительно отклоняется. Единственная приемлемая альтернатива — это X-сцепленный доминантный тип. Эта гипотеза независимо подтверждается тем фактом (разд. 3.1.4), что в среднем мужчины болеют тяжелее, чем женщины.

Для редкого кожного заболевания (дисципирующая кератома Брауера) ситуация

выглядит иначе. Предположим, что наследование этого признака связано с Y-хромосомой. В самом деле, все девять сыновей пораженных отцов в опубликованной родословной больны, тогда как пять дочерей в обоих поколениях здоровы. Это даст

$$(1/2)^9 \cdot (1/2)^5 = (1/2)^{14} = \frac{1}{16\,384}.$$

Следовательно, вероятность этого родословной при аутосомно-доминантном типе наследования довольно низка. Однако имеется важное отличие от примера с устойчивым к витамину D рахитом, для которого родословные с аутосомно-доминантным типом наследования не описаны, а все наблюдения подтверждают локализацию гена в X-хромосоме. С другой стороны, описано несколько семей с дисципирующей кератомой Брауера, в которых наблюдается четко выраженное аутосомно-доминантное наследование. Следовательно, можно предположить, что указанная выше родословная была выбрана из неизвестного массива наблюдений только благодаря привлекшей авторов особенности передачи признака. Приведенные нами расчеты вводят в заблуждение, потому что выборка (родословная) оказалась смещенной. По-видимому, все же этот признак аутосомно-доминантный.

Другим, более очевидным примером ошибки в определении выборочного происхождения служит мать, которая не хотела иметь желтого ребенка.

### 3.3.3. Тестирование сегрегационных отношений в отсутствие смещений, связанных с регистрацией: кодоминантное наследование

За исключением предельных случаев, вычисление точных вероятностей семей или групп семей определенного типа обычно не практикуется. Следовательно, применяемые статистические методы либо основываются на параметрах нормального распределения, которое служит хорошей аппроксимацией биномиального распределения (параметрические критерии), либо апеллируют непосредственно к вероятностным рассуждениям (непараметрические критерии). В генетическом анализе наиболее подходящим является критерий согласия хи-квадрат. Он позво-

ляет нам сравнивать частоты наблюдений в двух (или более) дискретных классах с их ожидаемыми значениями. Наиболее употребительная формула имеет вид

$$\chi^2 = \sum \frac{(E - O)^2}{E}$$

( $E$  – ожидаемое число,  $O$  – наблюдаемое число). В родословной Фараби с доминантным наследованием (разд. 3.1.2) у пораженных родителей имеется 36 больных и 33 здоровых ребенка. При доминантном наследовании  $E$  равно половине всех детей, т. е. 34,5:

$$\chi^2_1 = \frac{(36 - 34,5)^2}{34,5} + \frac{(33 - 34,5)^2}{34,5} = 0,13.$$

Вероятность  $P$  для такого же или большего отклонения от ожидаемого значения можно взять из таблицы значений хи-квадрат с одной степенью свободы. Число степеней свободы указывает, в скольких классах их частоты можно изменить, не изменяя общего числа наблюдений. В нашем случае объем класса здоровых однозначно определяется объемом класса больных. Следовательно, число степеней свободы равно 1. (Обычно число степеней свободы равно числу классов минус 1.)

Второй пример мы приведем для кодоминантного типа наследования (разд. 3.1.2). В табл. 3.1 приведены семейные данные Винера для групп крови MN. Совместимы ли полученные сегрегационные отношения с генетической гипотезой? Для решения этой проблемы браки MM × MM, MM × NN и NN × NN не информативны. Ожидаемые соотношения в браках MM × MN и NN × MN равны 1:1, а в браке MN × MN – 1:2:1. Расчеты по критерию хи-

квадрат приведены в табл. 3.6. В таблице интеграла вероятностей хи-квадрата для четырех степеней свободы находим  $P = 0,75$ . Это очень хорошее соответствие ожидаемым значениям.

**Доминирование.** Положение становится сложнее, когда один аллель доминантный, а другой – рецессивный, как, например, для системы групп крови ABO. Здесь фенотип A представлен генотипами AA и AO. Ожидаемые сегрегационные отношения среди детей таких родителей различны. Некоторых из гетерозиготных родителей AO можно распознать, например, в браках с партнером O, если дети имеют фенотип O. Другие случайно будут иметь детей только с фенотипом A. Чтобы правильно вычислить ожидаемые значения и сравнить их с наблюдаемыми, необходимы специальные статистические методы (см. приложение 2).

### 3.3.4. Тестирование сегрегационных отношений: редкие признаки

**Основные типы смещений.** Если изучаемый признак редкий, то обычно семьи не регистрируют случайно, а начинают с «пробанда», т. е. индивида с данным признаком. Это приводит к *смещениям вследствие регистрации*, которые необходимо поправлять. Смещения могут быть разного рода в зависимости от способа регистрации материала.

1. Семейный или усеченный отбор. В конкретной популяции в конкретный отрезок времени учитываются все индивиды, страдающие определенным заболеванием.

**Таблица 3.6.** Сравнение ожидаемых и наблюдаемых частот для данных Винера по группам крови MN (табл. 3.1 [952])

Тип брака	MM	MN	NN	$\chi^2$	Степени свободы
MM × MN	$\frac{(499 - 486)^2}{486}$	$\frac{(473 - 486)^2}{486}$	—	0,6955	1
MN × MN	$\frac{(199 - 200)^2}{200}$	$\frac{(405 - 400)^2}{400}$	$\frac{(196 - 200)^2}{200}$	0,1475	2
MN × NN	—	$\frac{(411 - 396,5)^2}{396,5}$	$\frac{(382 - 396,5)^2}{396,5}$	1,0605	1

Пораженные регистрируются независимо друг от друга, т.е. повторный случай в sibстве малого размера будет всегда обнаружен. Усеченная регистрация возможна, например, в том случае, когда признак обязательно приводит к медицинскому обследованию, и все врачи заносят каждый случай в определенный регистр, как при проведении эпидемиологического обследования. Такая полнота сбора материала обеспечивается группой ученых, занимающихся конкретным заболеванием или группой заболеваний.

Здесь смещение вследствие регистрации обусловлено исключительно тем фактом, что регистрируются sibства, в которых уже имеется по крайней мере один пораженный. Однако, как было показано выше (разд. 3.3.3), в выборку не попадут те sibства, в которых случайно нет пораженных. Их ожидаемое количество равно

$$\sum_s q^s n_s \quad (3.2)$$

( $s$  — количество детей в sibстве,  $p$  — сегрегационное отношение,  $q = 1 - p$ ,  $n_s$  — число sibств размера  $s$ ). Для рецессивных признаков  $p = 0,25$ , но, чем меньше средний размер sibства, тем сильнее отклонение в зарегистрированных семьях от отношения 3:1.

2. Неполный множественный (пробандовый) отбор и единичный отбор как предельный случай. В большинстве исследований регистрируются не все пораженные индивиды в популяции; часто исследование начинается с когорты призывников или больных какого-либо стационара. В этом случае необходимо рассмотреть дополнительные смещения: чем больше пораженных в sibстве, тем с большей вероятностью оно попадет в выборку. Это приводит к систематическому завышению доли пораженных, которые накладываются на завышение, обусловленное усеченным отбором.

Коллер (1940) [744] привел простой пример, демонстрирующий природу такого завышения. Предположим, что пробанды регистрируются во время медицинской комиссии, которую проходит группа призывников одного года. Пусть в популяции имеется ряд семей с тремя детьми, один из

которых призывного возраста и в которых хотя бы один ребенок поражен. Тогда будут зарегистрированы все семьи с тремя пораженными, две трети семей с двумя пораженными и одна треть семей с одним пораженным ребенком.

Методы коррекции, которые будут описаны ниже, могут считаться надежными, только если вероятность регистрации последующих sibсов не зависит от регистрации первого. В приведенном выше примере медицинского освидетельствования призывников это может быть и так. Однако, как правило, работа начинается с обследования стационарных больных или какой-либо другой группы лиц, подвергаемых медицинскому контролю. В этом случае в соответствии с общей практикой, если один заболевший ребенок уже прошел успешный курс лечения, то его sibс, заболевший позже, скорее попадет в ту же больницу. Однако возможна и противоположная тенденция. Беккер (1953) [564], например, собрал все случаи X-сцепленной рецессивной мышечной дистрофии Дюшенна в ограниченной области на юго-западе Германии. У него были всекие основания считать, что зарегистрированы все больные. Тем не менее пораженные братья, которые болели не первыми в своем sibстве, как правило, учитывались не в качестве пробандов (т.е. через больницу или врача), а через первого пробанда в семье. В беседах с родителями Беккер нашел причину этой необычной ситуации. Когда заболевает первый ребенок, родители обычно обращаются к врачу. Однако затем они убеждаются в том, что исследования и терапевтические процедуры не оказывают никакого влияния на развитие заболевания, и поэтому воздерживаются от направления второго заболевшего ребенка в больницу.

3. Кроме этих смещений, которые в известной мере можно скорректировать статистическими методами, имеются и другие, которые невозможно поправить. Например, часто генетическая гипотеза формулируется на основе семейных данных, собранных из литературы. Опыт показывает, что обычно такой подход приводит к разумным результатам лишь в случае ауто-сомно-доминантных и X-сцепленных рецес-



сивных заболеваний. В случае аутосомно-рецессивных болезней ситуация много сложнее: скорее появятся сообщения о семьях с существенным накоплением пораженных sibсов, чем о семьях с одним или двумя пораженными. Такой отбор по «интересным случаям» был важен в начале столетия, потому что тогда анализировали семьи с большим количеством детей. Открываемые сегодня рецессивные заболевания обычно интересны как с клинической, так и с биохимической точек зрения. Отбора такого типа можно избежать только с помощью опубликования всех случаев и путем критической интерпретации литературного материала. Но статистически правильная коррекция невозможна, поскольку в этом случае мы имеем дело с непредсказуемым систематическим смещением.

Подведем итог: методы сегрегационного анализа зависят от способа регистрации семейного материала. Отсюда следует, что способ регистрации всегда должен быть тщательно описан. Прежде всего, должны быть точно указаны все пробанды. Важно также, осознает ли автор в процессе сбора собственного материала, что он сталкивается со смещениями вследствие регистрации.

Эти рассуждения показывают, что оптимальный способ сбора материала состоит в полной (усеченной) регистрации случаев в популяции за определенный отрезок времени.

*Методы коррекции смещений.* Известны два разных типа таких методов: связанные с тестированием или с оценкой.

В методах тестирования наблюдаемые значения сравниваются с ожидаемыми, уже поправленными с учетом смещения вследствие регистрации. Впервые такой метод был предложен Бернштейном (1929) [744] для усеченного отбора. Ожидаемое число пораженных  $E_r$  равно

$$E_r = sn_s \frac{p}{1 - q^2}$$

в sibствах размера  $s$  (обозначения те же, что и для формулы 3.2). Аналогичный метод применим и для отбора по пробандам.

Методы тестирования отвечают на очень конкретный вопрос: «Согласуются ли наблюдаемые пропорции с ожидаемыми в соответствии с определенной генетической гипотезой?»

Во многих, если не во всех, реальных случаях вопрос ставится шире: «Каково несмещенное сегрегационное отношение в наблюдаемых sibствах?» Это проблема оценки. Самый первый метод был опубликован Вайнбергом (1912) [936] и назван sibсовым методом. Начиная с каждого пораженного sibса, определяется число пораженных и непораженных среди sibсов. Этот метод соответствует «усеченному отбору», т.е. когда каждый пораженный в то же время является пробандом. Sibсовый метод — это предельный случай «пробандового метода», который используют, когда семьи зарегистрированы с помощью неполного множественного отбора по пробандам. Число пораженных и непораженных sibсов подсчитывают, начиная с каждого пробанда. Предельным случаем, но уже с «другой стороны», служит единичный отбор. Здесь в каждом sibстве только один пробанд, и подсчет осуществляется один раз среди его sibсов.

При увеличении размера выборки оценки сходятся к параметру  $p$ , истинному сегрегационному отношению, т.е. эти оценки состоятельны. Однако уже давно стало очевидно, что они не эффективны, за исключением предельного случая единичного отбора, т.е. не используют оптимальным образом всю имеющуюся информацию. В связи с этим ряд авторов попытались улучшить свойства оценок. Здесь мы опишем метод взвешенных оценок, предложенный Финнеем [663], в модификации Кэлина (1953) [729]. Для его реализации достаточно калькулятора. Детальное описание метода оценки будет дано в приложении 3 для двух крайних вариантов: усеченный отбор ( $k = 1$ ) и единичный отбор ( $k = 0$ ), где  $k$  — вероятность регистрации семьи. При  $k = 1$  получается наибольшая оценка  $\hat{p}$  сегрегационного отношения  $p$ , а при  $k = 0$  — наименьшая. Кроме того, в приложении 3 будут обсуждаться другие статистические проблемы генетического анализа, такие, как генетическая гетерогенность, примесь

спорадических случаев, тестирование эффекта порядка рождения. Различные методы применяются для сбора семей с глухотой. Более сложные проблемы возникают при изучении сегрегации при хромосомных транслокациях, поскольку в этом случае семьи могут быть зарегистрированы через пробандов—носителей как несбалансированных, так и сбалансированных транслокаций, а также при популяционном исследовании (см. разд. 2.2.2). Соответствующие методы анализа будут обсуждаться в приложении 3.

### 3.3.5. Дискриминация клинико-генетических вариантов: генетическая гетерогенность

В клинической генетике сталкиваются с тем, что сходные или идентичные фенотипы часто обусловлены разными генотипами. Вот почему в течение последних десятилетий важной задачей медицинской генетики было разделение группы больных на меньшие, но генетически более однородные подгруппы.

На первый взгляд может показаться, что при современных биологических методах дискриминация клинико-генетических вариантов на чисто описательной основе, т. е. на уровне клинического фенотипа, уже не представляет интереса. Однако, по нашему мнению, значение фенотипической вариативности генетических болезней у человека необходимо по многим причинам:

а) такое знание помогает формулировать эвристические гипотезы и проверять их методами биохимии, молекулярной биологии, иммунологии;

б) помогает разобраться в генетическом грузе популяций человека;

в) способствует получению более адекватных данных по спонтанному и индуцированному мутагенезу.

*Генетический анализ мышечной дистрофии.* Мышечные дистрофии могут служить примером группы заболеваний, успешный анализ которых сочетал в себе изучение клинического полиморфизма и типа наследования. При этих заболеваниях имеется общая тенденция к медленной мышечной дегене-

рации, что приводит к обездвиживанию пораженных и их смерти. Часто больные существенно различаются по возрасту начала болезни, местоположению первого признака мышечной слабости, по тому, как быстро нарастают клинические симптомы, по типу наследования и др. Эти критерии были использованы медицинскими генетиками для построения классификации мышечных дистрофий:

- I Х-сцепленные мышечные дистрофии
  1. Детская или тяжелая форма (Дюшенна) (31020).
  2. Юношеская или доброкачественная форма (Беккера—Кинера) (30010)
  3. Доброкачественная форма с ранними уплотнениями (Сестана—Лежона и Эмери—Дрейфуса) (31030)
  4. Поздняя форма (Хэйка—Лаудана)
  5. Гемизиготная летальная форма (Хенсона—Мюллер—де Мьера) (30995)
- II Аутосомно-доминантная дистрофия
  - Плече-лопаточно-лицевая форма (Эрба—Ландузи—Дежерина) (15890)
- III Аутосомно-рецессивные мышечные дистрофии
  1. Детская форма
  2. Юношеская форма
  3. Взрослая форма
  4. Плечевая форма

Эта классификация основана на многих сообщениях из разных популяций, а в случае редких вариантов—на сообщениях об отдельных родословных. В нее не включены те случаи заболевания, когда поражение мышц затрагивало лишь отдельные участки, как при дистальной и окулярной формах. Исключены также врожденные миопатии. Основные критерии дискриминации очевидны из описательных понятий, использованных при составлении таблицы. Более детально они были описаны в 1972 г. Беккером [565].

*Многомерные статистики.* Критический ум человека служит превосходным дискриминатором. Однако в настоящее время существуют статистические методы для идентификации подгрупп внутри популяции на основе множественных характеристик (многомерные статистики). Такие методы

могут быть использованы и для более объективного решения проблемы дискриминации клинико-генетических вариантов. Первая попытка применения этих методов к мышечным дистрофиям была не совсем успешной [610], а более поздняя подтвердила результат, который был достигнут клиническими генетиками без применения этих методов [9]. Все же статистический подход заслуживает того, чтобы ему следовали в дальнейшем. Однако основной упор в анализе генетической гетерогенности должен быть сделан на развитие клинико-биохимических подходов, а не собственно статистических методов.

### 3.3.6. Заболевания со сложным типом наследования

Обсуждавшиеся до сих пор методы применялись в основном при анализе признаков, наследующихся в соответствии с простыми менделевскими правилами. Однако для многих заболеваний, особенно для широко распространенных и достаточно тяжелых (например, шизофрения, гипертония, диабет), имеется ряд проблем.

1. Трудно поставить диагноз. Часто встречаются пограничные случаи. Если подойти более формально, распределение пораженных и непораженных в популяции не является точно биномиальным.

2. Данные различных исследований, в том числе близнецов, указывают на то, что проявление заболевания зависит не только от генетических, но и от средовых факторов (например, снижение частоты диабета в европейских странах во время второй мировой войны).

3. Заболевание встречается настолько часто, что его накопление в семье может оказаться случайным (например, многие типы рака).

4. Существующие представления о патогенетических механизмах позволяют предполагать, что признак является не единым заболеванием, а совокупностью синдромов, общих для многих разных причин (например, эпилепсия). Фактически становится очевидным, что такие диагнозы, как гипертония или диабет, объединяют гетерогенные группы самостоятельных клини-

ко-генетических вариантов и форм патологии.

Не следует ожидать, что во всех таких случаях генетический анализ обобщенного фенотипа может обнаружить простой тип наследования (подробнее эта проблема обсуждается в разд. 3.6). Вместе с тем для многих заболеваний такого рода оправданы два практически важных вопроса.

1. Каков риск для родственников разной степени родства быть пораженными? Выше ли он, чем средний риск в популяции?

2. Каков вклад генетических факторов в заболевание? При каких условиях болезнь будет проявляться?

Семейное накопление можно оценить с помощью величин эмпирического риска. Чтобы ответить на некоторые вопросы, обсуждаемые в разд. 3.6.2, требуются близнецовые исследования и сравнения частот пораженных среди близких родственников пробандов с популяционными частотами. Здесь мы сделаем несколько замечаний относительно значений риска.

*Величины эмпирического риска.* Выражение «эмпирический риск» используется в противоположность «теоретическому риску», ожидаемому исходя из менделевских правил для заболеваний с простым типом наследования. Методология была разработана в 20-х гг. мюнхенской школой генетиков-психиатров с целью получения величин риска при психических заболеваниях.

Основу методологии составляет исследование достаточно большой выборки пораженных и их близких родственников. На основе этого материала вычисляются несмещенные значения риска для определенных классов родственников. При таком подходе делается неявное предположение, что, как правило, значения риска постоянны «в пространстве и во времени», т.е. в разных популяциях и при меняющихся условиях внутри одной популяции. Имеющиеся факты влияния условий среды на проявление таких заболеваний, как диабет, показывают, что хотя это предположение и не обязательно справедливо, но в первом приближении полезно.

Этот подход можно использовать и для решения такой проблемы: имеют ли два

заболевания А и В общую генетическую компоненту, увеличивающую долю больных с заболеванием А среди близких родственников пробандов с заболеванием В.

*Отбор и обследование пробандов и их семей.* Для заболеваний с простым типом наследования обычно осуществляется прямой отбор пробандов. Типы регистрации обсуждались в разд. 3.3.5. Для изучения эмпирического риска применяют те же правила. В случае широко распространенных заболеваний полная регистрация семей в популяции редко осуществима, а кроме того, она и не является необходимой для целей этих исследований. В большинстве случаев может быть использована определенная выборка пробандов, например все пораженные в определенной больнице в конкретный период времени. Тип регистрации будет единичным или очень близким к нему. Этот подход упрощает коррекцию смещений вследствие регистрации среди sibсов пробандов. Величины эмпирического риска можно вычислить путем подсчета пораженных и непораженных среди sibсов, исключая пробанда. Величины риска среди детей, зарегистрированных по поколению родителей, не смещены и в коррекции не нуждаются.

В тех случаях, когда диагностические критерии очерчены нечетко, критерии квалификации индивида в качестве пробанда должны быть однозначно описаны заранее, так же как и все возможные смещения вследствие отбора семей. Отобраны ли для исследования наиболее тяжелые случаи, обычно встречающиеся в больнице? Выбраны ли больные из конкретной социальной или этнической группы? Имеются ли другие смещения, которые могут повлиять на результат? На практике очень трудно, а может быть, и невозможно получить несмещенную выборку, однако о всех смещениях необходимо знать. Самое важное, что такие смещения должны быть независимы от решаемой задачи. Например, было бы ошибкой рассматривать только те случаи, которые характеризуются явным семейным отягощением той же патологией.

Основная цель исследований заключается в получении максимально возможной

и наиболее достоверной информации о пробандах и их родственниках, а способы достижения этой цели могут быть разными. Полезны клинические исследования и изучение публикаций по сходной тематике.

Если уж пробанд и его семья зарегистрированы, то информация о состоянии здоровья остальных его родственников обязательно должна быть собрана. Здесь очень важен личный осмотр исследователем, но во многих случаях помимо этого необходимы истории болезни пробанда и его родственников. Осмотр и история болезни должны быть подкреплены объективными данными, такими, как больничные записи и различные лабораторные и рентгенологические исследования. Даже к результатам клинических осмотров нужно относиться с некоторой долей скептицизма, поскольку не все врачи обладают одинаковыми знаниями и в равной степени внимательны, а официальные документы, такие, как свидетельства о смерти, в отношении диагноза причин смерти часто весьма ненадежны.

На основе полученных величин генетического риска в большинстве случаев дается ответ на вопрос, превышает ли риск для данного индивида среднепопуляционный или нет. Иногда имеются адекватные данные о частоте всех (или только новых случаев) в популяции, в которой проводится исследование, или сходной с ней. Однако скорее чаще, чем реже приходится исследовать контрольные выборки по тем же критериям, которые используются для «тестируемой» группы. Конечно, следует использовать соответствующие друг другу контрольные группы, т.е. для каждого больного исследовать контрольного индивида (matched controls) аналогично больному по многим «формальным» характеристикам, таким, как возраст, пол, этническое происхождение и т.п., кроме самого изучаемого признака.

*Статистическая оценка, коррекция на возраст.* Для признаков, которые проявляются сразу, таких, как врожденные пороки развития внешних частей тела, вычисления производятся непосредственно. Эмпирический риск для детей равен доле пораженных в выборке. Однако во многих случаях заболевание начинается позже и время

начала может сильно варьировать, например, для шизофрении между 15 и 45 годами. Здесь уместен вопрос: «Каков риск индивиду заболеть, если он (или она) моложе возраста проявления. Соответствующие методы коррекции на возраст широко обсуждались в старой литературе [744], наиболее употребимым является «сокращенный метод» Вайнберга. Сначала период полного проявления определяется на основе достаточно большой выборки больных (обычно большей, чем выборка исследуемых семей). Затем все родственники, которые не попадают в группу исследуемых как недостигшие еще возраста проявления, исключаются. В эту категорию могут попасть и те, которые по разным причинам выбывают из исследования: смерть, потеря контакта вследствие перемены места жительства или завершения исследования. С другой стороны, здоровые родственники, которые еще находятся в том возрасте, когда болезнь может проявиться, считаются за половину, а все, которые пережили этот возраст, подсчитываются полностью.

*Пример.* Среди детей в семьях, где один из родителей поражен шизофренией, имеется 50 пораженных и 200 непораженных. Причем 100 непораженных уже достигли возраста 45 лет, а 100 находятся в возрасте между 15 и 45 годами. Таким образом, поправленное число непораженных равно  $200 - 1/2 \cdot 100 = 150$  и эмпирический риск составляет

$$50/(150 + 50) = 25\%.$$

*Вычисление величин риска для шизофрении.* Описанная выше процедура будет продемонстрирована с использованием данных Кальмана (1938) [731] по генетике шизофрении. Это заболевание имеет ряд особенностей, неблагоприятных для генетического анализа. Диагностические критерии различны в разных психиатрических школах. Кроме того, отсутствие стопроцентной конкордантности в парах монозиготных близнецов свидетельствует о том, что подверженность не ограничивается только генетической компонентой (разд. 8.2.3.7).

Пробандами были все больные шизофренией, находившиеся в Берлинской государственной психиатрической больнице с 1893 по 1902 г. Единственным условием включения в выборку было наличие диагноза шизофрении по критериям, разрабо-

танным Крепелином. Эти критерии более жесткие, чем широко используемые в американской психиатрии. Диагноз был подтвержден самим исследователем на основе всех имеющихся данных. Зарегистрировано 1087 случаев: 647 женщин и 440 мужчин.

Семьи (дети, внуки, правнуки) сначала обследовались ассистентом, а затем врачом либо в больнице, либо на дому. Для диагностической квалификации использовали все имеющиеся типы объективных данных. Всего обследовали 13851 лиц, что в докомпьютерные времена вылилось в огромную работу.

В табл. 3.7 представлены величины риска для шизофрении и шизоидной психопатии у родственников всех степеней родства. Они были вычислены с помощью обсуждавшегося выше сокращенного метода Вайнберга. Использовались также более точные методы коррекции, но результаты практически не отличались. Затем данные были подразделены в соответствии с клиническими характеристиками заболевания у супругов, родителей и сибсов. Полученные результаты позволили авторам сделать следующие выводы.

1. Клиническая картина заболевания может быть разной. Это дает возможность провести подразделение шизофрении на ядерную группу (кататонии и гебефрении) и краевую группу (параноидные и простые формы). Риск выше для родственников больных ядерными формами.

2. В одной семье могут оказаться больные разными формами. Это означает, что существует общая генетическая основа для всех типов шизофрении. Однако имеется также внутрисемейная корреляция среди отдельных форм, которая показывает, что, несмотря на общую подверженность, имеются также и специфические компоненты наследственного предрасположения.

3. Риск для детей родителей-шизофреников стать пораженными в 19 раз выше среднепопуляционного, для внуков и двоюродных сибсов — примерно в пять раз выше. Кальман не исследовал контрольную группу, поскольку ранее Пэнс (1935) собрал контрольный материал из той же самой популяции и определил популяционную частоту шизофрении: она составила 0,89%.

**Таблица 3.7.** Значения эмпирического риска для шизофрении. (По Kallmann, 1938 [731].)

Степень родства с пробандом	Число индивидов старше 15 лет	Риск для шизофрении				
		Суммарно		Клинические подгруппы		Частота шизоидной психопатии
		Первичные данные	С поправкой на возраст	Ядерная группа (с поправкой на возраст)	Краевая группа	
		%	%	%	%	%
Дети	1000	13,9	16,4	20,9	10,4	32,6
Внуки	543	2,9	4,3	5,1	2,9	22,8
Правнуки	29	—	—	—	—	3,4
Сибсы	2581	7,5	11,5	12,9	8,9	10,5
Полусибсы	101	6,4	7,6	7,6	—	7,9
Племянники и племянницы	1654	1,9	3,9	4,7	3,4	6,2

Частота шизофрении в общей популяции составляет 0,9%. Отметим, что эмпирический риск родственников существенно не меняется во многих исследованиях, проведенных с 1938 г. В меньшей степени это относится к разбегу на ядерную и краевую группы, и значительные разногласия имеются в отношении шизоидной психопатии, которую трудно объективно диагностировать.

4. Дети пробандов с пораженными сибсами имели примерно такой же риск, как и дети пробандов без пораженных сибсов. Эти данные указывают на то, что в материале нет примеси ненаследственных случаев.

5. Риск для детей, оба родителя которых страдали шизофренией, стать пораженными составлял 68%.

6. Кальман исследовал также, встречаются ли какие-либо другие признаки чаще у близких родственников больных шизофренией. Он обнаружил, что чаще, чем в общей популяции, встречается туберкулез, т.е. подверженность туберкулезу как будто бы коррелирует с подверженностью шизофрении.

7. Репродуктивная способность родителей и их близких родственников была ниже, чем в популяции.

Впоследствии были проведены другие исследования в разных популяциях, и в настоящее время имеется значительное количество данных о величинах эмпирического риска при шизофрении. К этой теме мы снова вернемся в разд. 8.2.3.7.

*Величины теоретического риска, получаемые из оценок наследуемости.* Высказываются предположения [803], что величины эмпирического риска следует заменить величинами теоретического риска. Эти величины получают из оценок наследуемости в мультифакториальной модели (разд. 3.6.2) после установления соответствия имеющихся данных ожидаемым значениям на основе этой модели (как при простой диаллельной модели). Такие оценки наследуемости можно получить с помощью сравнения частоты признака в популяции с частотами в определенных группах родственников, например среди сибсов или, с ограничениями (разд. 3.8.4), у близнецов. Величины теоретического риска были рассчитаны для пилоростеноза [752]. Указанный метод допускает включение средовых (материнских) эффектов. Он может помочь в вычислении риска для тех категорий родственников, для которых нет достаточного количества данных, чтобы рассчитать эмпирический риск. Слабой стороной этого подхода является то, что он существенно зависит от предположения о достаточно хорошем соответствии генетической моде-

ли реальной ситуации. Выбранная генетическая модель может оказаться неприменимой к имеющейся совокупности данных, а усложненный статистический подход создаст иллюзию достоверности получаемых результатов. Полезно, хотя это и не всегда практически выполнимо, проводить эмпирическую проверку величин риска, предсказываемых с помощью таких методов.

### 3.4. Сцепление: локализация генов на хромосомах

Гены расположены в хромосомах в линейном порядке. Отсюда следует, что, во-первых, гены, локализованные в одной хромосоме, передаются совместно, а во-вторых, сегрегация сцепленных генов не является независимой. С другой стороны, известно, что во время первого мейотического деления образуются хиазмы и гомологичные хромосомы обмениваются между собой определенными сегментами (кроссинговер, см. разд. 2.1.2.4). Таким образом, гены, расположенные в одной хромосоме, не всегда передаются вместе. Вероятность совместной передачи двух сцепленных генов зависит от расстояния между ними и от того, насколько часто они разделяются кроссинговером. Если гены расположены на достаточном расстоянии друг от друга в большой хромосоме и между ними происходят многочисленные перекресты, то они могут сегрегировать даже независимо. Такие гены называют синтенными, а не сцепленными.

Великим достижением Моргана и его школы в первые два десятилетия нашего века было использование сцепления для локализации генов, расположенных на одной хромосоме, и создание генных карт плодовой мушки *Drosophila melanogaster*.

Развитие исследований по сцеплению и картированию генов человека задержалось на несколько десятилетий. В связи с тем что у человека прямые эксперименты по скрещиванию невозможны и приходится довольствоваться информацией о естественно формирующихся семьях, были разработаны сложные статистические методы, направленные на преодоление этих трудностей. Однако применение таких методов

редко вознаграждалось установлением сцепления [855]. Прорыв оказался возможен только благодаря разработке новых методов генетики соматических клеток, и особенно гибридизации клеток. Они позволили соотносить гены с определенными хромосомами и даже с конкретными хромосомными сегментами. Дальнейшие успехи связаны с применением методов молекулярной биологии, особую роль в этом сыграло открытие полиморфизма по сайтам рестрикции. Очень важной оказалась и методика гибридизации *in situ* с ДНК-зондами. Сегодня генная карта человека сильно насыщена. Число локализованных генов быстро растет, а это несет новые знания об организации генетического материала. Чем больше генов нанесено на карту, тем выше вероятность локализовать маркер, который можно использовать в анализе.

Сначала мы опишем классический подход к локализации генов, который использовали Морган и его последователи. Это дает благоприятную возможность для введения некоторых общих понятий. Затем расскажем о статистических методах, предназначенных для установления и измерения сцепления у человека. Примеры вычислений приведены в приложении 9. Наконец, изложим принципы гибридизации клеток и их применение к изучению сцепления.

#### 3.4.1. Классические подходы в экспериментальной генетике: эксперименты по скрещиванию и гигантские хромосомы

Согласно третьему закону Менделя, сегрегация двух разных пар аллелей происходит независимо друг от друга; все возможные зиготы по двум парам аллелей формируются при свободной рекомбинации. При скрещивании гетерозиготы  $AaBb$  и гомозиготы  $aabb$  образуются в равных пропорциях четыре типа особей.

Отцовские гаметы	AB	Ab	aB	ab
Материнские 1/4AaBb гаметы ab	1/4Aabb	1/4Aabb	1/4aaBb	1/4aabb

Вскоре после переоткрытия законов Менделя Бэтсон, Сандерс и Пеннет (1908) [561] нашли исключение из этого правила у *Lathyrus odoratus*. Одни комбинации встречались чаще, а другие – реже, чем ожидалось. В некоторых случаях в потомстве чаще встречались родительские типы (в нашем примере АВ – отцовское растение, а аb – материнское), в других случаях – два других типа Ab и aB.

Отцовские гаметы	AB	Ab	aB	ab
Материнские гаметы ab	AaBb	Aabb	aABb	aabb
Фаза притяжения	1/2 – 0	0	0	1/2 – 0
Фаза отталкивания	0	1/2 – 0	1/2 – 0	0

0 – частота рекомбинантов.

Создавалось впечатление, что у каждого из родителей аллельные гены либо притягиваются, либо отталкиваются. Бэтсон и др. [561] предложили для первого случая термин «притяжение», для второго – «отталкивание». Морган (1910) [448] указал, что притяжение и отталкивание отражают расположение двух генов на одной или на гомологичных хромосомах. Он ввел термин «сцепление». Притяжение означает, что у дважды гетерозиготного родителя гены А и В расположены на одной хромосоме  $\frac{AB}{ab}$ , отталкивание означает, что они расположены на гомологичных хромосомах  $\frac{Ab}{aB}$ . Для обозначения положения генов в фазах притяжения и отталкивания чаще употребляются термины *цис* и *транс* соответственно. При полном сцеплении потомство может быть только двух типов. Однако в большинстве случаев обнаруживаются все четыре типа, хотя два из них – в меньшем количестве. Морган объяснил это явление обменом хромосомными участками

между гомологичными хромосомами во время мейотического кроссинговера. Он обнаружил также, что частота кроссинговера зависит от расстояния между локусами двух генов на хромосоме. Используя в качестве аналитического инструмента рекомбинационный анализ, Морган и его коллеги успешно локализовали большое количество генов у дрозофилы. Их результаты были подтверждены, когда в начале 30-х гг. Гейтц, Бауэр и Пэйнттер открыли гигантские хромосомы у некоторых двукрылых и сопоставили данные о локализации конкретных генов, полученные косвенными методами, со структурными перестройками определенных хромосом. С тех пор анализ сцепления проведен для огромного количества видов.

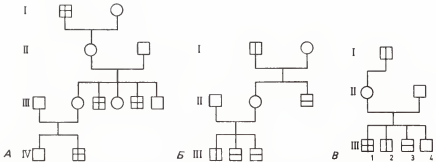
**Сцепление и ассоциация.** Иногда предполагают, что сцепленные гены в популяции должны ассоциировать, т.е. хромосомные комбинации АВ и ab (притяжение) должны обнаруживаться чаще, чем комбинации Ab и aB (отталкивание). Однако для популяции со случайным скрещиванием это не так. Даже при тесном сцеплении повторяющийся во многих поколениях кроссинговер будет приводить к равномерному распределению в популяции всех четырех комбинаций АВ, ab, Ab, aB. Как правило, ассоциация генетических признаков не указывает на сцепление, а вызвана другими причинами.

Однако это правило имеет исключения. Некоторые комбинации тесно сцепленных генов на самом деле встречаются чаще, чем ожидается при равномерном распределении. Такое «неравновесие по сцеплению» впервые было постулировано у человека для групп крови Rh (разд. 3.5.4) и доказано для главного комплекса гистосовместимости (МНС), особенно для системы HLA (разд. 3.5.5), а также для ДНК-полиморфизмов. Неравновесие по сцеплению имеет две причины.

1. Исследуемая популяция образовалась из двух популяций, различающихся частотами аллелей А, а и В, b, а время, прошедшее с момента смешения, недостаточно для полной рандомизации.

2. Высокая частота определенных ал-





**Рис. 3.23.** Родословные с цветовой слепотой на красный и зеленый цвет (■), гемофилией (□) и обоими признаками (■) в фазе притяжения (А), в фазе отталкивания (Б). В этой семье кроссинговер между двумя локусами должен

был произойти дважды: либо в ооците, из которого происходят III.1 и III.4, либо в ооците, из которого происходят III.2 и III.3 (А. Madfener, 1928 [772]; Б. Birch, 1937; В. Rath, 1938 [849]; Stern, 1973 [204].)

лельных комбинаций сцепленных генов поддерживается естественным отбором.

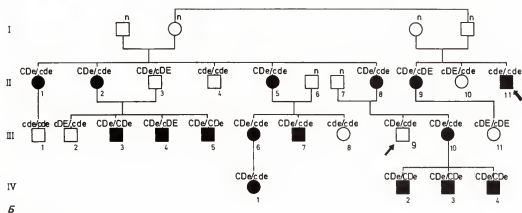
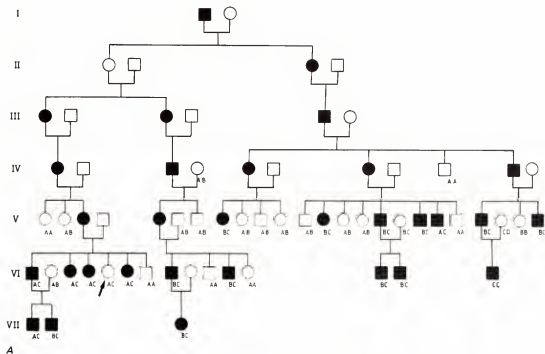
Детальнее эти вопросы будут обсуждаться в связи с системой МНС (разд. 3.5.5) и при обсуждении ассоциации между HLA и разными заболеваниями (разд. 3.7.3).

#### 3.4.2. Анализ сцепления у человека: классический метод родословных

**Прямое обследование родословных.** У человека анализ сцепления классическими методами, разработанными на дрозофиле, невозможен, поскольку невозможны прямые скрещивания. В ряде случаев некоторую информацию дает анализ родословной. Например, сцепление можно исключить, если один из генов локализован в X-хромосоме, а другой – в аутосоме, и напротив, сцепление можно с высокой вероятностью утверждать, если оба гена расположены в X-хромосоме. Выявление сцепления в этом случае может быть затруднено, если гены далеко отстоят друг от друга и разделяются кроссинговером. Это справедливо и для аутосомных генов. Гены, находящиеся в одной хромосоме, называют *синтеммными*. При этом неважно, можно ли формально продемонстрировать сцепление при семейном анализе или нет. Чтобы выявить кроссинговер, нужно исследовать либо большую родословную,

либо несколько небольших родословных. На рис. 3.23, А приведена родословная, в которой одновременно наследуются цветовая слепота (на красный и зеленый цвет – 30380, 30390) и гемофилия. Сибсы мужского пола в группах риска либо имеют оба признака, либо здоровы. Гены находятся в фазе притяжения (или *цис*-положении). В родословной на рис. 3.23, Б наблюдается противоположная картина: здесь гены находятся в фазе отталкивания (или *транс*-положении). В родословной на рис. 3.23, В кроссинговер должен произойти дважды в материнском ооците. Либо мать несет два мутантных аллеля в *цис*-положении, и второй и третий сыновья окажутся кроссоверами; либо у нее два мутантных аллеля в *транс*-положении, и тогда кроссоверами будут первый и четвертый сыновья. К сожалению, информация о цветовом зрении деда со стороны матери отсутствует, а именно она и могла бы разрешить этот спорный вопрос. В настоящее время имеется весьма подробная карта X-хромосомы человека (разд. 3.4.3, рис. 3.28).

Сцепление аутосомных генов в некоторых случаях может быть установлено простым обзором обширной родословной. На рис. 3.24, А изображена большая родословная, в которой хорей Гентингтона сегрегирует вместе с ДНК-маркером G8, выявляющим *HindIII*-полиморфизм в соот-



**Рис. 3.24.** А. Большая родословная из Венесуэлы с болезнью Гентингтона. А, В, С обозначают три разных «аллеля» полиморфного ДНК-маркера. Ген болезни Гентингтона передается вместе с аллелем С. Один индивид (указан *стрелкой*) до сих пор не заболел. Весьма вероятно, что эта женщина заболела позже. (По Gusella et al.)

[694.] Б. Аутосомное сцепление между локусом Rh и доминантным эллиптоцитозом (■). Имеются два кроссовера (указаны стрелками): II.11 и III.9. Во всех других случаях ген эллиптоцитоза находится в фазе притяжения (*cis*-положение) с гаплотипом CDe. *n* не обследован. (Lawler, Sandler, Ann. Eugen. 1954.)

ветствующем фрагменте генома человека [693]. В этой родословной наследуется четыре аллельных варианта маркера G8: A, B, C и D. Ген болезни Гентингтона неизменно проявляется у носителей аллеля C. Только одна женщина (VI.5, указана *стрелкой*) еще не заболела. Вероятно, это случится позже. Данная родословная указывает на тесное сцепление гена хорей Гентингтона и ДНК-маркера G8: было выявлено несколько кроссоверов, доля которых (т.е. фракция рекомбинантов) оказалась не выше 4%. На рис. 3.24, Б показана родословная с сегрегацией эллиптоцитоза (овальная форма эритроцитов) и комплекса генов системы резус (Rh). Почти все члены семьи с эллиптоцитозом имели комплекс CDe; выявлено лишь два исключения (II.9; II.11). Многие непораженные sibсы имели другие комбинации. При анализе этой родословной можно сделать вывод о наличии сцепления между локусом Rh и эллиптоцитозом. Такой вывод подтверждается другими родословными. Эти примеры показывают, что тип фазы аллелей двух анализируемых локусов (*цис*- или *транс*-положение) обычно можно установить с большой точностью, а рекомбинанты относительно легко идентифицируются, если для анализа доступны (по крайней мере) три поколения и много sibсов.

**Статистический анализ.** В большинстве случаев анализ сцепления намного труднее. Обширные родословные, подобные приведенным на рис. 3.24, — не правило, а исключение. Большинство семей состоит только из родителей и детей. В этом случае проблема заключается в том, что фаза сцепления обычно неизвестна: двойная гетерозигота может быть AB/ab (*цис*) или Ab/aB (*транс*). Когда аллели распределены в популяции равномерно, оба типа ожидаются примерно с одинаковыми частотами. Индивиды AB/ab будут формировать гаметы в отношении

AB	Ab	aB	ab
$\frac{1-\theta}{2}$	$\frac{\theta}{2}$	$\frac{\theta}{2}$	$\frac{1-\theta}{2}$

С другой стороны, у гетерозиготы Ab/aB

гаметы формируются в отношении

AB	Ab	aB	ab
$\frac{\theta}{2}$	$\frac{1-\theta}{2}$	$\frac{1-\theta}{2}$	$\frac{\theta}{2}$

Если два указанных типа имеют примерно равные частоты, то средняя частота всех четырех типов гамет в популяции будет

AB	Ab	aB	ab
$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$

и все четыре типа гамет оказываются с одинаковыми частотами независимо от вероятности рекомбинации  $\theta$ . Сцепление не приводит к какой-либо ассоциации аллелей A, B или a, b в популяции. Должен быть найден какой-нибудь другой критерий сцепления, который не зависит от фазы двойных гетерозигот.

Такой критерий должен быть основан на распределении детей в sibствах. В браках AB/ab (*цис*-положение) большинство детей должны иметь аллельные комбинации своих родителей; в браках лиц Ab/aB (*транс*-положение) большинство детей будут иметь новые аллельные комбинации. Как измерить эти отклонения от равномерного распределения внутри sibств и использовать их для установления сцепления и определения вероятности рекомбинации? Первым предложил такой метод Бернштейн (1931) [571]. В настоящее время для установления сцепления обычно используют метод «лод-баллов», разработанный Холдейном и Смитом (1947) [699], а также Мортон (1955 и далее) [796; 797; 798; 799]. Его принцип заключается в следующем.

Вычисляется вероятность  $P_2$  того, что имеющиеся семейные данные соответствуют случаю двух неспеленных, свободно рекомбинирующих генов. Аналогично определяется вероятность  $P_1$  того, что те же семейные данные соответствуют случаю двух сцепленных генов с частотой рекомбинации  $\theta$ . Отношение этих двух вероятностей есть отношение правдоподобий, которое выражает шансы за и против сцепления. Это отношение  $P_1(F/\theta)/P_2(F/1/2)$  должно быть вычислено для каждой семьи F.

Пусть, например, один из супругов (муж) имеет генотип двойной гетерозиготы

по паре аллелей A,a и B,b, а второй (жена) – генотип двойной гомозиготы по двум рецессивным аллелям этих генов aa, bb. Кроме того, пусть двое сыновей в этой семье являются, подобно отцу, двойными гетерозиготами, т.е. они унаследовали от отца аллели A и B. Если гены сегрегируют независимо, то вероятность такого события равна  $1/2 \cdot 1/2 = 1/4$ . Если гены тесно сцеплены, то в отсутствии кроссинговера вероятность такой родословной может быть вычислена следующим образом. Гены находятся либо в фазе притяжения AB/ab, и тогда вероятность совместной передачи двум сыновьям составляет  $1/2$  (передача комбинации ab также имеет вероятность  $1/2$ ), либо в фазе отталкивания Ab/aB, и тогда передача обоих доминантных аллелей одному сыну предполагает наличие кроссинговера, т.е. при тесном сцеплении и отсутствии кроссинговера вероятность совместной передачи в условиях фазы отталкивания равна 0. Следовательно, суммарная вероятность передачи комбинации aB обоим сыновьям равна  $1/2$  и отношение правдоподобий составляет  $P_1/P_2 = (1/2)/(1/4) = 2$  в пользу тесного сцепления. Таким же способом можно вычислить аналогичные отношения правдоподобий для любой степени сцепления.

Для удобства используется логарифм отношения правдоподобий “log odds” (логарифм шансов):

$$z = \log_{10} \frac{P(F|\theta)}{P(F|1/2)} \quad (3.3)$$

В этой формуле  $P(F|\theta)$  означает вероятность семьи F, когда частота рекомбинации равна  $\theta$ . Преимущество в использовании логарифмов вместо самих вероятностей состоит в том, что  $z_i$  любой вновь обследованной семьи просто суммируется с предшествующим результатом, давая  $z = \sum z_i$  для всех обследованных семей.

В уравнении (3.3) подразумевается, что частота рекомбинантов одинакова для обоих полов. Поскольку существуют половые различия в уровнях рекомбинации [855], то для реальных данных величина  $z$  должна быть вычислена отдельно для каж-

дого из полов:

$$z = \log_{10} \frac{P(F/\theta, \theta')}{P(F/(1/2, 1/2))}, \quad (3.4)$$

где  $\theta$  – частота рекомбинации у женщин, а  $\theta'$  – у мужчин.

Из определения отношения правдоподобий следует, что с увеличением числителя повышаются шансы в пользу наличия сцепления. В терминах логарифмов это означает, что, чем больше величина  $z$ , тем лучше обосновано наличие сцепления. Обычно лод-балл  $z \geq 3$  рассматривается как доказательство сцепления. При вычислении шансов необходимы небольшие поправки на доминирование и регистрацию родословных с редкими признаками, но здесь мы не будем касаться этого вопроса [882].

Лод-балл  $z(\theta, \theta')$  для всей выборки семей равен сумме лод-баллов отдельных семей. Для упрощения вычислений в первом приближении можно положить  $\theta = \theta'$ . Когда наличие сцепления уже установлено, можно тестировать половые различия.

**Лод-баллы.** Существует большое число таблиц лод-баллов, публиковавшихся вместе с правилами их применения. В работе с достаточно обширными родословными рекомендуется использовать алгоритм, предложенный Оттом [831a, б, в; 612a]. В идеальном для исследователя браке один из супругов должен быть двойной гетерозиготой, т.е. гетерозиготой по двум разным генам, а второй – гомозиготой по этим же генам. С другой стороны, есть семьи, которые не дают никакой информации для вывода о сцеплении:

а) в которых ни один из родителей не является двойной гетерозиготой;

б) в которых не выявляется никакой сегрегации;

в) в которых фазы двух генов у супругов неизвестны и, кроме того, имеется лишь один ребенок.

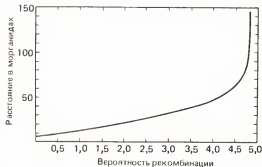
Большинство исследований по сцеплению основаны на анализе либо двух часто встречающихся в популяции генетических маркеров, либо какого-то частого маркера и редкого наследственного заболевания. Благоприятные возможности установить

сцепление между двумя редкими генами вряд ли когда-либо реализуются. Идеальная родословная для изучения сцепления включает три поколения и много брачных пар с большим числом детей [945, 946]. Сибства большого размера встречаются в западных странах все реже. Альтернативный подход заключается в тестировании большого числа малолетних семей. Хотя в большинстве случаев выборки такого типа содержат слишком мало данных о сцеплении, но иногда в очень больших выборках можно выявить некоторую новую информацию о сцеплении.

Программа LIPED — компьютерная программа, которая дает оценки максимального правдоподобия параметров сцепления на основе всех данных о родословных. Эта программа вычисляет наиболее вероятные генотипы членов родословной и использует эти данные для получения наиболее вероятного значения частоты рекомбинации. Поскольку скорость компьютера намного превышает скорость ручных расчетов, программа LIPED стала стандартным инструментом в изучении сцепления у человека [831].

Как уже упоминалось в разд. 2.1.2.4, длина генетической карты генома человека составляет примерно 25,8 морганид. Если считать, что в гаплоидном геноме содержится примерно  $3,5 \cdot 10^9$  нуклеотидных пар, то 1 сМ соответствует  $\approx 1,356 \cdot 10^6$  нуклеотидных пар (или 1356 т. п. н.). Однако, как будет обсуждаться ниже, распределение сайтов кроссинговера в различных хромосомах не является равномерным.

Когда установлено сцепление и получена максимально правдоподобная оценка  $\theta$ , необходимо решить вопрос о возможной гетерогенности этого параметра. Например, если имеется сцепление между полиморфным маркером и локусом редкого доминантного признака, то тест на гетерогенность сцепления может оказаться полезным для выявления генетической гетерогенности синдрома (если сцепление справедливо только для некоторой части семейного материала). В приложении 9 приведены два численных примера: для сцепления средней степени и для отсутствия сцепления (или независимой рекомбинации).



**Рис. 3.25.** Соотношение между вероятностью рекомбинации и расстоянием ( $m$ ) в морганидах [612a]. Зависимость экспоненциальная, поскольку количество двойных (и множественных) кросс-овов растет с увеличением расстояния на карте.

*Вероятности рекомбинации и генетическая карта.* Когда сцепление между несколькими локусами уже установлено, следующий шаг заключается в оценке расстояния между этими локусами на генетической карте. Эти расстояния выражаются в морганидах (или сантиморганидах). Одна сантиморгана (сМ) соответствует 1% рекомбинации ( $\theta = 0,01$ ), если анализируются короткие участки хромосом. Для больших расстояний между локусами необходима поправка на двойной кроссинговер. Для этого были предложены разные методы вычисления так называемой картирующей функции [612a]. С помощью специального графика (рис. 3.25) для заданной частоты рекомбинации  $\theta$  расстояние по карте можно определить непосредственно.

*Аутосомное сцепление, половые различия и влияние возраста родителей.* Сцепление аутосомных генов у человека впервые было выявлено для локуса системы эритроцитарных антигенов Лютеран и локуса секреции антигенов системы ABO. Несколько лет спустя удалось установить сцепление между локусами системы Rh и эллиптоцитозом (16690). Эти данные использовали для выявления генетической гетерогенности эллиптоцитоза, поскольку не все семьи с этим синдромом обнаруживали сцепление. Впоследствии сцепление было показано для локуса системы ABO и локуса доминантного

ногте-надколенного синдрома (16120). В этом случае впервые удалось выявить половые различия по частоте рекомбинации у человека: расстояние на генетической карте составляло 8 сМ у мужчин и 14 сМ у женщин. Аналогичные половые различия были установлены для пары локусов Lu/Se (мужчины: 10 сМ; женщины: 16 сМ), для пары ABO/Ak (аденилаткиназа) (мужчины: 12 сМ; женщины: 19 сМ), для пары HLA-PGM<sub>3</sub> (мужчины: 15 сМ; женщины: 3 сМ). Как мы уже говорили, при анализе сцепления теперь используют полиморфизм по длине рестриционных фрагментов. В некоторых случаях, например для длинного плеча хромосомы 13, этот метод позволил подтвердить более высокую частоту кроссинговера у женщин [945]. Однако имеются литературные данные и о том, что уровень рекомбинации может быть выше у мужчин. Такой вывод сделан, например, для дистальной трети короткого плеча хромосомы 11 [944].

Более высокая частота рекомбинации у самок была обнаружена также и для мыши [853]. Эти результаты подтверждают сформулированное Холдейном еще в 1922 г. правило, согласно которому кроссинговер чаще происходит у гомогаметного пола (т.е. XX), чем у гетерогаметного (т.е. XY). Например, у самок дрозофилы кроссинговера нет вовсе.

В свое время имела место продолжительная дискуссия относительно влияния возраста родителей на уровень рекомбинации. Имеющиеся данные на мышах свидетельствуют о том, что с возрастом частота рекомбинации у самок снижается, а у самцов повышается. Вейткамп (1972) [939] для восьми тесно сцепленных локусов у человека обнаружил значимое увеличение частоты рекомбинаций с возрастанием порядкового номера беременности, что указывает на влияние возраста родителей (оно было одинаковым и у женщин, и у мужчин). Зависимость частоты рекомбинации от возраста родителей характерна для пар локусов Лютеран/секретор и Лютеран/миотоническая дистрофия (16090), а для пар локусов ABO/ногте-надколенный синдром и Rh/PGD такое влияние обнаружено не было. Вероятно, частота рекомбинаций

разных локусов в мейозе зависит от возраста по-разному [855].

Как следует из публикаций, цитогенетические данные о частоте хиазм у 204 мужчин свидетельствуют о небольших (или нелинейных) изменениях с возрастом [754a]. Для женщин подобные цитогенетические данные отсутствуют. Расхождения между данными формально-генетического анализа сцепления и цитогенетическими данными о частоте хиазм не находят пока четкого объяснения.

*Морфологические маркеры хромосом.* Пары или кластеры сцепленных аутосомных генов (группы сцепления) невозможно соотносить с конкретными хромосомами на основе использования только формально-генетического анализа родословных. Впервые собственно локализация гена в определенной хромосоме у человека была осуществлена следующим образом [629; 855].

В длинном плече первой хромосомы у человека часто обнаруживается вторичная перетяжка вблизи центромеры. Примерно в 0,5% случаев в популяции эта перетяжка оказывается намного тоньше и длиннее, чем в норме. Такие варианты наследуются доминантно. Если один из гомологов первой пары хромосом обнаруживает аномальный фенотип, то предполагается, что он несет аллель (фактор деспирализации). Имеются данные о тесном сцеплении между локусом группы крови Даффи и локусом Un-1:  $\theta = 0,05$ . С другой стороны, ранее было установлено сцепление между локусами Даффи и врожденной очаговой катаракты (11620). Следовательно, группу сцепления из трех локусов: катаракты, Даффи и Un-1 можно соотносить с первой хромосомой или «приписать» ее к этой хромосоме.

Другая возможность локализации гена на конкретной хромосоме связана с анализом делеций. Например, если ген, для которого известна доминантная мутация, оказывается утерянным вследствие делеции, то отсутствие этого гена может детерминировать фенотип, сходный с тем, который обуславливает доминантная мутация. Когда делеция достаточно велика по размеру и захватывает участки, смежные с данным локусом, можно ожидать, что в

фенотипе будут представлены дополнительные симптомы. В 1963 г. у умственно отсталого ребенка с двусторонней ретинобластомой была обнаружена делеция в длинном плече одной из хромосом группы D [1531] (как выяснилось позже – хромосомы 13). Делеция 13q14 была найдена и в ряде других случаев с ретинобластомой и дополнительными аномалиями. У больных ретинобластомой без дополнительных симптомов делеция обычно не наблюдалась. Из приведенных фактов следует, что locus ретинобластомы относится к хромосоме 13.

Другой, по-видимому чаще используемый, подход основывается на количественном исследовании ферментативной активности в случаях с хромосомными аномалиями. Большинство ферментов характеризуются четко различимым эффектом дозы гена, т.е. гетерозиготы по ферментативной недостаточности обнаруживают примерно 50%-ную ферментативную активность. Сходный эффект дозы гена можно ожидать и в том случае, когда ген теряется вследствие делеции. Такой подход к картированию использовался для большого числа генетических маркеров. Чаще всего результат оказывался отрицательным, но такого рода «исключающее картирование» полезно тем, что может сузить область вероятной локализации генов-маркеров. Следует, правда, учесть, что на основе этого подхода были сделаны и неправильные выводы, поскольку наличие «молчащего» (нулевого) аллеля, т.е. не проявляющейся мутации, может имитировать эффект делеции.

Если верно, что гетерозиготы и моносомы обнаруживают эффект дозы гена, то вполне реально ожидать наличие такого же эффекта и у трисомиков. Первые исследования активности ферментов при синдроме Дауна (трисомия по 21-й хромосоме), казалось бы, подтвердили такой вывод. Однако, чем больше ферментов включали в анализ, тем больше среди них обнаруживали таких, которые следовало бы отнести к 21-й хромосоме (активность большинства изученных ферментов оказалась повышенной). Кроме того, у больных с синдромом Дауна обнаружилось неожиданное увеличение активности X-сцепленного фермента G6PD. Отсюда следует, что количествен-

ные изменения ферментативной активности у трисомиков *in vivo* могут быть связаны с нарушениями регуляции активности генов, локализованных в разных хромосомах.

Тем не менее все большее число случаев эффекта дозы генов описывается для трисомных и моносомных клеток, культивируемых *in vitro* [1185] (разд. 4.7.4.3). Остановимся лишь на одном примере. Активность фермента фосфорибозилглицинамидсинтетазы (GARS) изучалась в нескольких случаях частичной моносомии и частичной или полной трисомии 21. Эти исследования были стимулированы предшествующими данными о наличии эффекта дозы гена для этого фермента. При регулярной трисомии коэффициент превышения по отношению к норме составил 1,55. В других случаях соотношения были: 0,99 для моносомии 21q21 → 21 pter; 0,54 для 21q22 → 21qter-моносомии; 0,88 для 21q21 → 21pter-трисомии и 1,46 для 21q22.1-трисомии. Анализируя эти данные, можно прийти к выводу о возможной локализации гена GARS в субсегменте 21q22.1 [322]. Некоторые другие примеры приведены в табл. 4.27 и приложении 9. Использование разных вариантов хромосомной морфологии (таких, как упомянутая выше вторичная перетяжка на хромосоме 1) и эффекта дозы гена для картирования – путь медленный и недостаточно надежный. Новый метод картирования, основанный на гибридизации клеток, привел к большим успехам в этой области.

### 3.4.3. Анализ сцепления у человека: гибридизация клеток и ДНК-технология

*Слияние клеток: первые наблюдения.* История открытия этого феномена описана Харрисом [702; 692]. Еще в 1838 г. Мюллер наблюдал двухъядерные клетки в опухолях, впоследствии Робин обнаружил их в костном мозге, Рокитански – при туберкулезной инфекции, а Вирхов – как в нормальных, так и в опухолевых тканях. Вывод о том, что двухъядерные клетки образуются в результате слияния одноядерных, был сделан в работе де Бари (1859). Он обнаружил, что в жизненном цикле определенных мик-

сомицетов происходит слияние отдельных клеток и формирование многоядерных структур. Самые ранние сообщения о многоядерных клетках в поврежденных тканях, появление которых можно было бы определенно приписать действию вируса, принадлежали Лугинблюму (1873) и Вейгерту (1874), наблюдавшим такие клетки на поверхности оспенных гнойничков.

Разработка методов культивирования тканей *in vitro* дала возможность часто наблюдать феномен слияния и уже к 1927 г. в 21-ой работе имелись ссылки на такие наблюдения. Было обнаружено (Enders, Peebles, 1954), что слияние клеток в культуре ткани и формирование многоклеточных синцитиев может индуцировать вирус кори. В 1958 г. Окада показал, что опухолевые клетки животных быстро сливаются и формируют многоядерные гигантские клетки при культивировании в жидкой среде в присутствии высоких концентраций вируса NVJ (из группы паравирусов).

В 1960 г. Барски с сотр. в смешанной культуре опухолевых клеток двух разных, но родственных линий мышей идентифицировали клетки, возникшие в результате спонтанного слияния. Эти клетки содержали внутри единственного ядра хромосомные наборы обеих родительских линий. Позже группа исследователей во главе с Эфрусси пришла к выводу, что гибридизоваться могут не только клетки близкородственных линий мышей, но и линий с более выраженными генетическими различиями. Однако выяснилось, что частота спонтанного слияния клеток очень низка, а клетки многих типов спонтанно вообще никогда не сливаются и этот процесс необходимо индуцировать. Кроме того, для накопления гибридных клеток при культивировании они должны обладать селективным преимуществом.

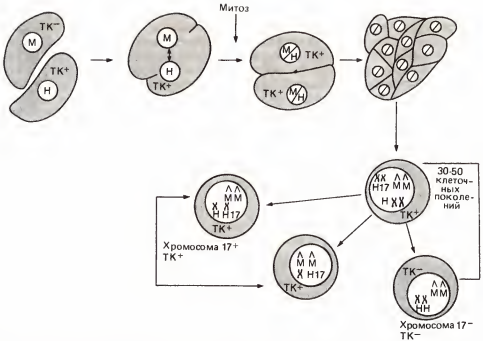
Вскоре обе проблемы были решены. В 1964 г. Литтлфилду удалось выделить из смешанных культур встречающиеся с очень низкой частотой продукты спонтанного слияния. Для этого он воспользовался методикой, широко применяемой в генетике микроорганизмов. При слиянии двух клеток, характеризующихся недостаточностью по двум разным ферментам, возни-

кали гибриды, обладающие полным набором ферментов и способные расти на среде, лишенной соответствующих пищевых добавок.

Харрис и Воткинс (1965) [254] повысили частоту слияния различных клеток путем воздействия вирусом Сендай, предвременно инактивированным ультрафиолетом. С помощью этого метода им удалось показать, что слиться могут клетки самых разных видов организмов и что слившиеся клетки жизнеспособны. С этой работы началось широкое использование метода гибридизации клеток в различных областях клеточной биологии.

*Утрата хромосом в гибридных клетках человек-мышь и отнесение гена к определенной хромосоме.* Вейс и Грин (1967) [938] гибридизовали анеуплоидную мышиную линию клеток (подлинную мышиную L-клетку) с диплоидной линией человеческих эмбриональных фибробластов. Клетки мыши были мутанты по локусу тимидинкиназы (ТК) и не росли на среде НАТ. Таким образом, среда НАТ была селективной, на ней отбирались клетки, содержащие ТК-локус человека (18830). Два типа клеток смешивали и выращивали в стандартной среде. Через четыре дня культуры помещали в селективную среду НАТ. При этом мышинные клетки дегенерировали, и в культуре оставались только клетки человека. Через 14–21 день на монослое человеческих клеток можно было выявить гибридные колонии. Несколько таких колоний изолировали и выращивали более продолжительное время. Их клетки в основном сохраняли хромосомный набор мыши, а 75–95% человеческих хромосом были утрачены. Однако почти во всех клетках, выращенных в среде НАТ, присутствовала одна человеческая хромосома. Была выдвинута гипотеза, что ген тимидинкиназы расположен именно в ней. Для проверки этой гипотезы контрольные эксперименты проводили на среде, содержащей BrdU (бромдезоксисуридин) — аналог тимина, распознаваемый тимидинкиназой и способный поэтому включаться в ДНК вместо тимина, что приводит к отбору против клеток, содержащих этот фермент. Ту хромосому, которую по харак-





**Рис. 3.26.** Принцип локализации гена на аутосоме. Мышечные клетки, дефицитные по тимидинкиназе (М, TK<sup>-</sup>), выращивают в смешанной культуре с нормальными клетками человека (Н, TK<sup>+</sup>). Клетки сливаются спонтанно, под действием химических агентов или с помощью вируса Сендай. Образовавшиеся гибридные клетки че-

рез 30-50 поколений теряют часть хромосом человека. Только те из них, которые сохранили хромосому 17 человека, обнаруживают активность тимидинкиназы (слева). У клеток, лишившихся хромосомы 17, ТК-активность отсутствует (клетка справа внизу).

терной морфологии выявляли почти во всех НАТ-культурах, ни в одной из BrdU-культур обнаружить не удалось. Авторы сделали вывод о том, что ген ТК действительно расположен в этой хромосоме. Позже было установлено, что хромосома, несущая локус ТК, относится к 17-й паре ([788], рис. 3.26).

В результате этой работы были сформулированы два основополагающих принципа.

1. Гибриды клеток мыши и человека имеют тенденцию к утрате многих хромосом человека. Показано, что утрата носит случайный характер, и поэтому среди большого числа гибридов всегда можно найти клетку, сохранившую какую-нибудь одну конкретную хромосому человека.

2. Используя подходящую селективную систему, можно отобрать клетки с определенной ферментативной активностью и локализовать ген этого фермента на конкретной хромосоме.

Метод гибридизации клеток позволяет изучать и локализовать гены, продукты которых можно идентифицировать как в клетках человека, так и в клетках животных. Один из путей идентификации — использование селективной системы.

С 1967 г. были созданы селективные системы для нескольких ферментов. В одной из них используется локус HPRT X-хромосомы (раз. 4.2.2.6). Эту систему применяют для идентификации не только X-сцепленных локусов, но и тех аутосомных, которые транслоцированы на X-хро-

мосому. Существует возможность локализовать и такие гены, для которых селективная система не разработана. В этом случае необходимо, чтобы генные продукты – ферменты, принадлежащие двум видам, имели четкие различия, например, по электрофоретической подвижности. Однако этот метод более громоздкий и основан на детальном биохимическом и цитогенетическом анализе большого количества клеточных клонов. Локализация генов оказалась бы неразрешимой задачей, если бы со временем не были разработаны методы идентификации хромосом с помощью дифференциального окрашивания.

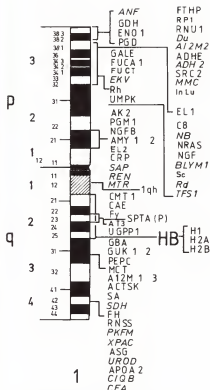
*Метод окрашивания и идентификация хромосом.* Дальнейшие успехи в картировании связаны с появлением новых методов идентификации индивидуальных хромосом, основанных на их дифференциальном окрашивании. Благодаря этим методам можно идентифицировать не только целые хромосомы, но и отдельные их части. В гибридных культурах довольно часто возникают хромосомные разрывы и перестройки. Это создает предпосылки для подходящей селекции гибридных клонов, содержащих интересующие нас части хромосом. Именно так некоторые локусы были отнесены к определенным хромосомным сегментам (или группе соседних сегментов).

*Другие источники информации о локализации генов.* Другим методом, используемым для локализации генов, является ДНК–РНК-гибридизация *in situ*. В этом методе меченая информационная РНК искомого гена (или кДНК, получаемая из мРНК с помощью фермента обратной транскриптазы) гибридизуется с предварительно денатурированной хромосомной ДНК. Последовательности кДНК (или иРНК, гибридизуясь со своими ДНК-копиями в хромосомах, будут обнаруживаться в конкретных участках определенных хромосом. В настоящее время этот метод используют для изучения распределения в хромосомах высокоповторяющихся последовательностей ДНК, а также для локализации уникальных нуклеотидных последовательностей, для которых существуют подходящие ДНК-

зонды. Если мы имеем дело с повторяющейся ДНК, удельной радиоактивности зонда вполне достаточно для визуализации участков гибридизации даже в одной метафазе (разд. 7.2.2). В случае же уникальных последовательностей ДНК, соответствующих, например, генам заболеваний с простым типом наследования, анализ одной метафазы явно недостаточен (ввиду наличия на радиоавтографе фоновых сигналов). Тогда используется статистический подход, т.е. анализируют суммарные распределения радиоавтографического сигнала (зерен метки) по многим метафазам.

*Полиморфизм ДНК и картирование.* В последние годы выявляется все больше случаев полиморфизма ДНК по сайтам рестрикции (разд. 2.3.2.7, 6.1.2). Это обстоятельство раскрыло новые дополнительные возможности картирования генома человека. Установление тесного сцепления с рестрикционным маркером ДНК позволило локализовать гены многих важных наследственных болезней в конкретных хромосомных сегментах. На рис. 3.24, А представлена большая родословная с хореей Гентингтона. ДНК-маркер и, следовательно, ген хорей расположены на хромосоме 4. Модельные расчеты [584; 754; 887] показали, что для картирования всего генома необходимо лишь несколько сотен рестрикционных маркеров ДНК, случайным образом распределенных по геному человека. Для целей медико-генетического консультирования и пренатальной диагностики (разд. 9.1) достаточен по крайней мере один маркер, тесно сцепленный с геном данного наследственного заболевания.

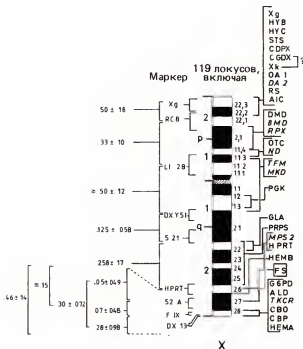
Недавно для изучения новых маркеров использовали линии лимфобластов от индивидов из больших семей, в трех поколениях которых известны генотипы по многим локусам RFLP (от англ. restriction fragment length polymorphism – полиморфизм по длине рестрикционных фрагментов) [944]. С увеличением количества известных локусов рестрикционного полиморфизма становится все более важным анализ сцепления не только между двумя генами (например, один из них – ген заболевания, а другой – рестрикционный маркер), но также между



**Рис. 3.27.** Цитологическая карта генов хромосомы 1 человека. Объяснение сокращений дано в табл. П.9.5. Гены, локализация которых в первой хромосоме не подтверждена, обозначены курсивом.

геном заболевания и набором (более или менее тесно сцепленных) маркеров — гаплотипом. Такие гаплотипы широко применяются в генетическом консультировании и пренатальной диагностике талассемии (разд. 4.3). Используя наборы маркеров, можно существенно увеличить число родственников, генотипы которых оказываются информативными для анализа сцепления и, следовательно, для постановки диагноза (разд. 3.4.2).

В последние годы достигнуты большие успехи в выявлении сцепления и в локализации локусов в определенных хромосомах. Каждые два года собираются меж-



**Рис. 3.28.** Цитологическая карта генов X-хромосомы человека. *Справа:* транскрибируемые гены и их вероятная локализация. *Слева:* расстояния между обычными и молекулярными (рестрикционными) маркерами. Объяснение сокращений дано в табл. П.9.5.

дународные конференции, которые публикуют итоговые материалы своей работы. Ученые, работающие в этой быстро развивающейся области науки, создали свою собственную независимую от официальных каналов систему научного взаимодействия.

**Современное состояние проблемы локализации генов в аутосомах.** Представленная выше информация суммирована на рис. 3.27 и 3.28, а также в табл. П.9.5, в которой представлены методы картирования.

**X-сцепленные гены.** Отнесение локусов к X-хромосоме не вызывает затруднений, если родословные обнаруживают типичную

картину X-сцепленного наследования. Приписывание же локусов конкретным сегментам X-хромосомы требует помимо семейных исследований применения новейших методик. Почти все X-сцепленные локусы (а их больше чем 115) отнесены к этой хромосоме на основе анализа родословных (и для многих из них это подтверждено методами гибридизации соматических клеток). Лишь небольшая часть генов локализована с помощью методов гибридизации соматических клеток. Многие локусы посредством этих методик можно приписать определенным участкам X-хромосомы. Такие исследования дополнялись и часто подтверждались анализом сцепления в семьях. Были идентифицированы два генных кластера: Xg-кластер, охватывающий гены, сцепленные с геном группы крови Xg (31470), и G6PD-кластер. Ген Xg расположен близко от конца короткого плеча (сегмент Xp 22.3) и тесно сцеплен с локусом икhtiоза (стероидная сульфатаза, 30810). Локус G6PD (30590) расположен в сегменте Xq28 недалеко от конца длинного плеча. К этому кластеру принадлежат гены гемофилии А (30670) и В (30690), гены, детерминирующие умственную отсталость с ломкой X-хромосомой (30955; разд. 8.2. 1.2), и ген HPRT (30800, разд. 4.2.2.6). В него входят также гены протанопии (30390) и дейтеранопии (30380) — цветовой слепоты. На рис. 3.28 показаны сайты локализации генов. Локусы вблизи теломерного конца короткого плеча (Xg, X-сцепленный икhtiоз) не вовлекаются в инактивацию (разд. 2.2. 3.3). Этот сегмент X-хромосомы во время мейоза конъюгирует с Y-хромосомой (разд. 2.1.2.4). В генных банках X-хромосом уже изолированы и идентифицированы многие ДНК-зонды (разд. 2.3.2.5) [624; 750]. В опытах по гибридизации с такими ДНК-зондами показано, что X-хромосома имеет гомологию с Y-хромосомой не только по районам короткого плеча (с которыми она обычно конъюгирует), но и по другим областям [848]. Эти результаты важны для нашего понимания эволюции половых хромосом и механизмов генотипической детерминации пола (разд. 7.2.1).

На рис. 3.28 в качестве примера показано маркирование сегментов X-хромо-

сомы на основе полиморфизма по длине рестриктов. В последнее время обнаружено много случаев рестрикционного полиморфизма. Делается попытка использовать этот феномен для пренатальной диагностики X-сцепленных заболеваний (разд. 9.1).

*Неравномерное распределение рекомбинационных событий по длине хромосомы 1.* Огромный поток новой информации ставит и новые задачи. Наиболее важен вопрос о том, существует ли для генов с родственными функциями тенденция к тесной кластеризации на одних и тех же хромосомах? Мы обсудим эту проблему в разд. 3.5 более подробно.

Другой важный вопрос заключается в том, совпадают ли генетические расстояния, оцениваемые в ходе семейного анализа сцепления, с расстояниями, получаемыми на основе картирования с помощью клеточных гибридов человек—мышь, в которых сохранились частично делетированные хромосомы человека? Имеющиеся на сегодняшний день данные, касающиеся хромосомы 1, свидетельствуют о хорошем, хотя и не абсолютном соответствии между сайтами локализации (и расстояниями), полученными по физическим данным, и теми, которые базируются на семейных данных [736].

*Анализ сцепления количественных признаков.* В ранних исследованиях по сцеплению иногда изучали и количественные признаки с мультифакториальным наследованием. При этом рассуждали, что анализ сцепления позволит выявить главные гены, оказывающие влияние на эти фенотипы. Теоретически такой подход вполне корректен. Если измеряемый признак обнаруживает очень тесное сцепление с генетическим маркером, это на самом деле указывает на главный ген, тесно сцепленный с геном-маркером. Если удается обнаружить сцепление для двух измеряемых признаков, то оба они могут быть связаны с влиянием двух главных генов. Однако к выводам следует относиться с большой осторожностью. Следует всегда помнить, что

1) если одновременно анализируют много количественных признаков, то наличие сцепления можно зафиксировать за счет чисто случайных флуктуаций критериев значимости;

2) сцепление приводит к наличию корреляций в семьях, но не в популяции. Ассортативное

скрещивание может иногда обуславливать ассоциацию измеряемых градуированных признаков.

Достиженные до сих пор результаты по количественным признакам не воодушевляют. С появлением множества новых рестрикционных ДНК-маркеров возможности анализа этих признаков возросли, но интерпретация данных, получаемых в ходе таких исследований, по-прежнему очень трудна.

*ДНК-варианты в анализе сцепления.* Большое количество полиморфных локусов ДНК дает в руки исследователей много новых маркеров. Когда имеют дело с ген-специфическими ДНК-зондами (табл. 2.13), такими, как, например, в  $\beta$ -глобиновом локусе, физическое расстояние от сайта полиморфизма до сайта  $\beta$ -гемоглобинопатии настолько мало, что возможностью рекомбинации между ними можно пренебречь. С другой стороны, сцепление между локусом генетического заболевания и «анонимным» ДНК-зондом вряд ли будет очень тесным. То же самое рассуждение применимо для сцепления, установленного между ген-специфическим зондом и локусом заболевания, которое биохимически не связано с этим зондом. При таких обстоятельствах обычно будут обнаруживаться кроссоверы между ДНК-маркером и геном заболевания. Примерами могут служить маркеры болезни Гентингтона (маркер G8, 5cM) и мышечной дистрофии Дюшенна (X-сцепленные маркеры, 15 cM) [369; 667, 2306].

Между RFLP-сайтами данного локуса часто обнаруживают неравновесие по сцеплению. Поскольку эти сайты очень тесно сцеплены, кроссинговер между ними очень редок, и пройдет немало поколений, прежде чем будет достигнуто равновесие по сцеплению. Кроме того, современные данные свидетельствуют о том, что уровни рекомбинации в пределах тесно сцепленных RFLP-маркеров могут сильно варьировать, т.е., по-видимому, существуют «горячие» и «холодные» сайты рекомбинации [1097, 1959].

*Практическое применение результатов исследований по сцеплению.* До недавнего времени исследования по сцеплению представ-

ляли в основном теоретический интерес. Теперь появилась возможность практически применять полученные знания. Например, если ген А вызывает редкое наследственное заболевание, проявляющееся в позднем возрасте, а ген В является генетическим маркером, тесно сцепленным с А и сегрегирующим в той же семье, то заболевание можно предсказать еще в раннем возрасте. Например, локусы гемофилии А и маркера G6PD тесно сцеплены. Следовательно, информация о типе G6PD необходима для вычисления риска быть гетерозиготной по гену гемофилии А для сестры больного гемофилией. Предположим, что мать — гетерозигота G6PD A/B, а пробанд — гемизигота А. Если его сестра — гомозигота В, то она должна была унаследовать аллель В от матери. Следовательно, она унаследовала X-хромосому, несущую аллель В и, весьма вероятно (при отсутствии кроссинговера), нормальный аллель для продукции фактора VIII. В этом случае существует маленький (или вовсе не существует) риск для ее сыновей унаследовать ген гемофилии А. В пренатальной диагностике гемофилии А руководствуются теми же принципами. Поскольку миотоническая дистрофия и ген секретора сцеплены, типирование секретора используется для выявления эмбрионов с миотонической дистрофией при внутриутробной диагностике [895a]. Пренатальная диагностика  $\beta$ -талассемии осуществляется посредством идентификации в ДНК клеток амниотической жидкости сайтов RFLP, тесно сцепленных с Hb  $\beta$ -геном [1253].

Этот подход имеет несколько ограничений, которые не всегда учитывают. Во-первых, должна существовать гетерозиготность по ДНК-маркеру. Если в данной семье не наблюдается вариация подходящего локуса ДНК, то диагностика становится невозможной. К счастью, достижения в этой области растут, идентифицируются все больше вариантов ДНК. Если гетерозиготность по маркерному локусу ДНК существует, семья должна быть достаточно большой, чтобы провести необходимые исследования на нескольких членах семьи и сделать соответствующий вывод о сцеплении маркерного гена с геном заболевания.

Особенно удобны большие группы родственников, но на практике они редко встречаются. Х-сцепленные заболевания более предпочтительны для анализа, чем аутосомные, поскольку мужчины имеют только одну Х-хромосому, что упрощает точное приписывание сцепленного маркера гену заболевания (рис. 3.28). При Х-сцепленных летальных болезнях, таких, как мышечная дистрофия Дюшенна, и в меньшей степени при гемофилии (разд. 9.1) имеется много новых мутаций. Часто невозможно определить, где появились новые мутации: в зародышевых клетках родительского или прародительского поколения. Если мутация произошла у родителей, то сестра больного не рискует оказаться носительницей, однако риск будет составлять 50%, если мутация произошла в прародительском поколении. Решение этой проблемы может оказаться трудным, поскольку биохимически тестируемый носитель часто не является достаточно информативным по ДНК-маркерам (приложение 8, разд. 4.2. 2.8).

При анализе британских семей с болезнью Гентингтона было показано, что только 15% из них имели структуру, подходящую для идентификации гена болезни Гентингтона у взрослых, которые имели 50%-ный риск, хотя все семьи были информативными по ДНК-маркеру [2307]. Этот результат объяснялся отсутствием живых прародителей и наличием малого числа пораженных sibсов. В противоположность этому практически полезный диагноз в отношении плода (или уже родившегося ребенка) в семьях, где прародитель имел болезнь Гентингтона, был возможен в 90% случаев. Примерно в половине таких случаев болезнь можно было вполне определенно исключить, тогда как в другой половине случаев имелся 50%-ный риск заболевания. Точная дородовая диагностика осуществима только тогда, когда возможно определенное предсказание в отношении родителей (т.е. в 15% семей, как это было выше).

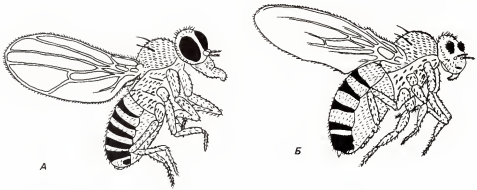
### 3.5. Тесно сцепленные и функционально родственные гены

#### 3.5.1. Некоторые примеры из экспериментальной генетики

Тесно сцепленные локусы могут демонстрировать *цис-транс*-эффект. При анализе некоторых полиаллельных серий у дрозофилы иногда наблюдался кроссинговер между отдельными аллелями. Это могло означать, что участок хромосомы, рассматриваемый как «один» ген, подразделяется на более мелкие единицы генетической рекомбинации. Такие аллели были названы «псевдоаллелями» (McClintock, 1944 [782]). В ряде случаев псевдоаллели обнаруживали так называемый *цис-транс*-эффект. Когда две мутации располагались вместе (*цис*-положение), особь имела нормальный фенотип, при их расположении на разных гомологичных хромосомах (*транс*-положение) проявлялась фенотипическая аномалия [764].

На рис. 3.29 приведен один из примеров такого рода. Речь идет о двух мутациях второй хромосомы *Drosophila melanogaster*: доминантной *S(star)* и рецессивной *ast(asteroid)*. В стандартном генетическом эксперименте эти мутации ведут себя подобно аллелям. Однако при анализе очень больших выборок с частотой 0,02% обнаруживаются рекомбинанты. Генотипы *S ast/+ +* и *S +/+ +* фенотипически идентичны: в обоих случаях глаза несколько меньше, чем у дикого типа, и имеют неровную поверхность (рис. 3.29,А). С другой стороны, генотип *S +/+ ast* обуславливает намного более сильное нарушение фенотипа: глаза у таких мух очень маленькие, грубые, а крылья имеют аномальные жилки (рис. 3.29,Б).

*Объяснение в терминах молекулярной биологии.* Биохимическая природа мутаций *star* и *asteroid* не изучалась. С другой стороны, было известно, что у грибов, бактерий и фагов генетическая рекомбинация внутри функциональных генов, т.е. внутри областей ДНК, несущих информацию об одной полипептидной цепи, — вполне нормальное явление. В настоящее время *цис-транс*-эффект рассматривают как следствие проявления двух мутаций, неспособных дополнять друг друга функционально, т.е. расположенных внутри одного и того же струк-



**Рис. 3.29.** *Цис-транс-эффект* мутаций *S* (*star*) и *ast* (*asteroid*) у *Drosophila melanogaster*. *A.* *Sast*/ + + (*цис-конфигурация*); *Б.* *S* + / + *ast* (*транс-конфигурация*). Отметим, что у *транс-гетерозиготы* глаза меньше и жилки на крыльях редуцированы [764].

турного гена. В то же время функциональное взаимодополнение двух мутаций свидетельствует о том, что данные мутации расположены в разных функциональных генах. Анализ этого явления заставил Бензера (1957) [569] заменить единый термин «ген» (единица мутации, рекомбинации и функции) тремя терминами: *мутон* – наименьшая единица мутации; *рекон* – наименьшая единица рекомбинации и *цистрон* – (от *цис-транс-эффект*) – наименьшая единица функции. Однако введение в генетическую терминологию этих понятий не привело к исчезновению термина «ген», который употребляется чаще всего в смысле «цистрон»; при этом подразумевается, что он имеет множество мутационных сайтов и может разделяться рекомбинацией. Сейчас накоплены данные о том, что у высших организмов ген как функциональная единица на самом деле много длиннее, чем последовательность ДНК, непосредственно кодирующая структуру определенного полипептида. Ген содержит также длинные участки ДНК с регуляторной функцией, которые обнаруживают *цис-транс-эффект*, а также сегменты ДНК на концах «структурного» гена, которые также могут быть вовлечены в регуляцию (разд. 2.3.5).

*Несколько генов могут быть тесно сцеплены.* Часто оказывается, что мутации, затрагивающие родственные функции, тес-

но сцеплены. При этом они могут дополнять друг друга функционально, но не обнаруживают *цис-транс-эффекта*. Показано, что у бактерий, подобных *E. coli*, гены, контролирующие отдельные звенья в цепи последовательно действующих ферментов, тесно сцеплены между собой и расположены в хромосоме в соответствии с последовательностью метаболических превращений. Их активность подчиняется общему регулирующему механизму с одним оператором и промотором [117].

### 3.5.2. Некоторые особенности генетической карты человека

*Типы генных кластеров.* При поверхностном знакомстве с генетической картой человека может возникнуть впечатление, что большинство локусов распределены в значительной мере случайно. Однако имеются исключения:

- 1) локусы  $\gamma$ -,  $\delta$ - и  $\beta$ -глобинов человека тесно сцеплены;
- 2) иммуноглобулиновый район содержит несколько локусов, ответственных за синтез  $\gamma$ -глобулиновых полипептидных цепей.

В обоих случаях возможен генетический анализ как на основе известных аминокислотных последовательностей соответствующих белков, так и на уровне нуклеотидных последовательностей внутри транскрибируемой цепи ДНК, что позволяет найти

«границы» между тесно сцепленными генами;

3) в хромосоме 1 локализовано не менее четырех генов, вовлеченных в контроль гликолитического пути;

4) ряд генов, контролирурующих близкородственные ферменты, оказываются тесно сцепленными: например, гены панкреатической амилазы и амилазы слюны локализованы в хромосоме 1; к той же хромосоме относятся гены гуанилаткиназы;

5) известно, что гены красно-зеленой цветовой слепоты расположены в одном и том же кластере X-хромосомы, и хотя между ними иногда наблюдается кроссинговер, есть данные, указывающие на то, что эти гены расположены очень близко друг к другу;

6) иная, совершенно отличная от предшествующих группа представлена генами поверхностных антигенов (главным образом антигенов эритроцитов), участвующих в реакциях антиген-антитело. Примерами могут служить подтипы внутри системы групп крови Rh;

7) исключением является и кластер генов, участвующих в контроле иммунного ответа. Это кластер генов МНС (главный комплекс гистосовместимости) и различных компонентов комплекса в хромосоме 6.

*У человека генные кластеры пока не выявлены.* Как уже упоминалось выше, у бактерий функционально родственные гены часто тесно сцеплены: они находятся под общим контролем внутри оперона. Логично предположить, что такие опероны есть и у человека. Однако имеющиеся в настоящее время данные не дают оснований для такого вывода. Известно, например, что у бактерий гены галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы и галактокиназы относятся к одному оперону. У человека эти гены расположены в хромосомах 3 и 17 соответственно. Аналогично ген G6PD человека локализуется в X-хромосоме, а ген 6-PGD, контролирующий следующий этап биохимического пути, – в хромосоме 1. Попытки найти у человека мутации регуляторных генов, так часто встречающиеся у бактерий, тоже до сих пор не увенчались успехом.

Означает ли это, что модель Жакоба – Моно регуляции генов, хорошо изученная у бактерий, неприменима к высшим организмам, подобным человеку? К этой проблеме мы вернемся в разд. 4.7.

### 3.5.3. Почему существуют кластеры генов?

*Генные кластеры – результат эволюционного процесса.* В некоторых случаях кластеризация генов отражает историю эволюционного развития. Допустим, на ранних этапах эволюции существовал один локус, затем произошла дупликация гена и появилась возможность функционального расхождения. Первая дупликация подготовила почву для последующих дупликаций на основе механизма неравного кроссинговера (разд. 3.5.8) и, следовательно, для дальнейшей функциональной специализации.

В отсутствие хромосомных перестроек гены в пределах кластера остаются тесно сцепленными. Неизвестно, однако, является ли это необходимым условием их правильного функционирования. Возможно, что в ряде случаев это и так, однако для понимания феномена кластеризации вовсе не обязательно постулировать тесное сцепление: достаточным оказывается объяснение с эволюционной точки зрения. Например, гены некоторых изоферментов расположены в разных хромосомах, например, ген лактатдегидрогеназы (LDH) A локализован в хромосоме 11, а LDHB – в хромосоме 12. Это может быть следствием полиплоидизации на ранних этапах эволюции или следствием хромосомной перестройки спустя некоторое время после дупликации гена. Гены  $\alpha$ -глобиновой группы у человека, очевидно, родственны по происхождению генам  $\delta$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобинов, однако они не сцеплены.

*Гены цветовой зрения.* Расположенные в X-хромосоме гены цветоаномалий – протанопии и дейтеранопии – также возникли путем генной дупликации. Хотя в этом случае анализ белковых продуктов пока не возможен, поскольку эти продукты еще не идентифицированы, однако остроумные

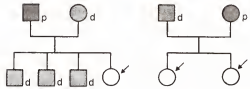


эксперименты, использующие методы сенсорной физиологии и уникальные возможности человеческого глаза, приближают анализ к молекулярному уровню.

Теория Юнга–Гельмгольца, предложенная в девятнадцатом столетии, предполагает три совместно действующих механизма цветового зрения: один с максимальной чувствительностью к красному цвету, другой—к зеленому и третий—к фиолетовому—голубому. Три основных типа дефектов цветового зрения объясняются недостаточностью в одном из этих механизмов. Дефекты цветоощущения на красный и зеленый цвет встречаются в популяции довольно часто, а на фиолетовый—голубой цвет—крайне редко, и мы не будем здесь касаться этого последнего варианта [214]. Новые подходы, основанные главным образом на отражательной денситометрии в сочетании с микроручевой методикой воздействия на сетчатку, показали, что чувствительность к красному и зеленому цвету определяется двумя разными пигментами. Они содержатся в колбочках сетчатки, причем каждая колбочка содержит только один тип пигмента. При протанопии и дейтеранопии полностью отсутствует один из этих двух пигментов, а при промежуточных типах цветоаномалий—протаномалии и дейтераномалии—пигменты присутствуют в колбочках, но изменены их спектры поглощения.

Из анализа родословных известно, что имеются два набора аллелей, один для протанопии, а другой для дейтеранопии. Родословные типа указанных на рис. 3.30 и 3.31 демонстрируют генетическую независимость этих дефектов цветоощущения, однако некоторые наблюдения свидетельствуют о наличии редких мутаций, не обнаруживающих полной комплементации [668]. Согласно последним результатам молекулярной генетики, гены протанопии и дейтеранопии произошли от одного гена путем дупликации, последующих мутаций, неравного кроссинговера или генной конверсии [825a].

*Дупликация и кластеризация, вероятно, необходимы для усиления функции. В описанных выше примерах кластеризация ге-*



**Рис. 3.30, 3.31.** В двух семьях нормальные девочки имеют родителей с разными X-сцепленными аномалиями (p и d) цветового зрения. Все три дочери (помечены стрелками) имеют нормальное цветовое зрение, хотя они унаследовали соответствующие гены от каждого из родителей. Здесь имеет место комплементация мутаций, в результате чего двойные гетерозиготы нормально различают цвета. Тот факт, что в обоих браках матери гомозиготны, вытекает из X-сцепленного типа наследования дефектов цветового зрения. Только гомозиготные женщины страдают дальтонизмом [668].

нов не сопровождалась какими-либо очевидными функциональными последствиями. Однако было бы странным, если бы эволюция не использовала преимущества этой ситуации, комбинируя продукты генных кластеров для формирования функциональных единиц более высокого порядка. Предположение такого рода, вероятно, справедливо в случае гемоглобина, поскольку в  $\beta$ -глобиновом кластере гены  $\epsilon$ -,  $\gamma$ -,  $\beta$ - и  $\delta$ -глобиновых цепей расположены в той же последовательности, в какой они начинают экспрессироваться в онтогенезе (разд. 4.3). В случае иммуноглобулинов тесное сцепление отдельных генов (возможно, даже многих) приобрело функциональное значение (разд. 4.4), поскольку продукты этих генов комбинируются и формируют различные классы функциональных молекул.

### 3.5.4. Группы крови: Rh-комплекс, неравновесие по сцеплению

**История.** В 1939 г. Левин и Стетсон [762] исследовали сыроворотку крови женщины, которая родила мертвый плод и в анамнезе которой имело место переливание крови мужа, совместимой по ABO группе.

При этом ими были обнаружены особые антитела. Позже Левин и Стетсон показали, что из 1010 образцов крови только 21 дал отрицательную реакцию с этими антителами. Выявленные антитела никакой связи с системами групп крови ABO, MN и P не имели.

В 1940 г. Ландштейнер и Винер [753] при иммунизации кроликов эритроцитами макака-резуса получили сыворотку, которая агглютинировала эритроциты 39 из 45 особей. При сравнении этих антител с антителами, обнаруженными Левином и Стетсоном, авторы пришли к выводу, что в обоих случаях реакция происходит с одним и тем же антигеном. В дальнейшем оказалось, что это не совсем так. В настоящее время антиген, открытый с помощью истинного анти-резус-антитела, называется LW — в честь Ландштейнера и Винера, а Rh-типирование у человека всегда проводится с сывороткой человеческого происхождения, как это было сделано в работе Левина и Стетсона. Последующее изложение вопроса относится только к реакциям с этими антителами человека.

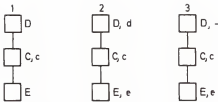
Огромная практическая важность системы Rh стала очевидной, когда была установлена связь между этими антителами и несчастными случаями при переливании крови. Кроме того, стало понятным, что именно резус-несовместимость матери и плода является причиной эритробластоза плода и гемолитической болезни новорожденных. Оказалось, что эритроциты примерно 85% всех представителей белой расы дают положительные реакции с анти-Rh-сыворотками. Семейными исследованиями было установлено, что Rh-положительные индивиды являются гомозиготами Rh/Rh или гетерозиготами Rh/rh, тогда как rh-отрицательные индивиды — это гомозиготы rh/rh.

В 1941 г. Винер открыл другие антитела, которые реагировали с эритроцитами 70% всех индивидов и отличались от основного фактора Rh (Rh' по Винеру). Третий родственный фактор был открыт в 1943 г. В семейно-популяционных исследованиях выявлены все возможные комбинации этих трех факторов, причем наследовались совместно именно комбинации. Винер выдви-

нул гипотезу, согласно которой эти серологические «факторы» являются «агглютиногенами» и что каждый из них детерминируется одним аллелем из серии множественных аллелей одного гена. Эта описательная гипотеза настолько неконкретна, что на ее основе можно было объяснить все, в том числе и позже открытые факты. Для того чтобы судить о внутренней структуре Rh-локуса, по мнению большинства исследователей, необходимо было провести биохимический анализ.

*Гипотеза Фишера о тесно сцепленных локусах.* В 1943 г. Фишер сформулировал более конкретную гипотезу. В то время удалось выявить еще одно антитело, анти-Hr, и Фишер, анализируя подготовленные Рейсом полные таблицы серологических данных, обнаружил, что Rh'- и Hr-факторы комплементарны. У каждого человека в крови присутствуют либо антиген Rh', либо Hr, либо оба антигена. Индивид, имеющий оба антигена, никогда не передает их вместе одному потомку, т.е. ребенок всегда получает только один антиген из двух. Для объяснения этих фактов Фишер предложил модель, согласно которой пара аллелей определяет один из двух антигенов. Эта пара была названа C/c. Аналогично была постулирована дополнительная пара аллелей D/d для исходных антигенов Rh+ и rh—, а также третья пара аллелей для уже открытого тогда третьего серологического фактора. Кроме того, чтобы согласовать генетические данные о наследовании всех трех факторов, постулировалось наличие тесного сцепления между этими тремя локусами.

Гипотеза Фишера предполагала открытие двух недостающих (комплементарных D и E) антигенов d и e. Это предсказание подтвердилось для антигена e, но не для d. По-видимому, этот хромосомный район не содержит то «нечто», что приводит к образованию антител. В развитии данной гипотезы Фишер сделал важный шаг вперед. В британской популяции наиболее частыми были три класса комплексов Rh-генов (рис. 3.32, 3.33). По мнению Фишера, редкие комбинации появляются вследствие изредка происходящего кроссинговера.



**Рис. 3.32.** Гипотетическая структура Rh-комплекса. 1. На основе данных, известных к 1941 г. 2. Антигены, предсказанные Фишером и Рейсом. 3. Уже открытые антигены (антиген *d* пока не обнаружен).

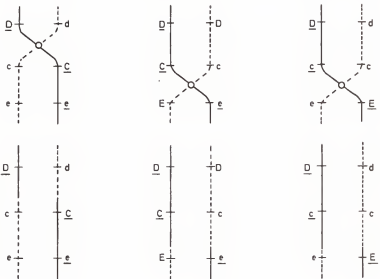
Действительно, все четыре комбинации, относящиеся к редким классам, могут возникнуть в результате кроссинговера между более частыми комбинациями, но для *CdE* это не так. Для появления этой комбинации необходим двойной кроссинговер. Следовательно, гипотеза объясняет, почему комбинация *CdE* так редка. Возможно и другое объяснение. При каждом кроссинговере, приводящем к возникновению *Cde*, *CDE* или *cdE*, должна возникать также и комбинация *cDe*. Отсюда следует, что суммарная частота первых трех комбинаций должна быть равна частоте *cDe*. Действительно, найденные частоты были

такими: *cDe* – 0,0257 и *Cde* + *cdE* + *CDE* – 0,0241 (среди негров, однако, частота *cDe* была выше).

Кроме того, Фишер предположил, что три указанных локуса расположены в последовательности *D–C–E*, поскольку комбинация *cdE*, которая возникает вследствие кроссинговера между локусами *D* и *E* в генотипе *cDE/cde*, встречается намного чаще относительно этого генотипа, чем комбинация *CDE* относительно генотипа *CDE/cDE* (кроссинговер между *C* и *E*).

*Подтверждение и предварительная интерпретация порядка расположения генов.* За 30 лет, прошедших с тех пор, как Фишер выдвинул свою гипотезу, было сделано много новых наблюдений. Наиболее важным для решения вопроса о порядке расположения генов было выявление комбинированных антигенов, например *се*. Существование этого составного антигена, по видимому, не противоречит последовательности *D–C–E*, тогда как составные антигены, предполагающие тесное сплеение между *D/d* и *E/e*, не были обнаружены. Гипотеза Фишера поставила два вопроса.

1. Если вследствие кроссинговера формируются иногда редкие комбинации из более частых, то в семейных исследованиях



**Рис. 3.33.** Предполагаемое образование трех редких Rh-гаплотипов из более частых вследствие кроссинговера (Race, Sanger [166]). Каждая диаграмма предполагает самостоятельное событие кроссинговера.

должны обнаруживаться случаи кроссинговера. Действительно, имелось сообщение об одной такой семье [896]: у отца с генотипом  $CDe/cde$  и матери с генотипом  $cde/cde$  было четверо детей  $cde/cde$  и трое —  $CDe/cde$ , что находится в полном соответствии с генетической теорией. Однако шестой (в порядке рождения) ребенок имел генотип  $Cde/cde$ . Этот факт можно было бы объяснить тем, что ребенок внебрачный. Однако такое объяснение кажется мало-правдоподобным, если исходить из данных по другим группам крови и сывороточным факторам, а также учитывая принадлежность этой семьи к секте с особо строгими нравами. Однако других семей, подобных этой, обнаружено не было. Вполне вероятно, что многие исследователи просто не станут учитывать такой атипичный случай, поскольку заподозрят здесь методическую ошибку.

2. Какова должна быть структура Rh-локуса(ов) в свете достижений молекулярной генетики? Имеются две принципиальные возможности:

а) Rh-комплекс — это один цистрон с многими мутационными сайтами. Мутационные изменения выражаются в антигенных различиях;

б) Rh-комплекс состоит из нескольких тесно сцепленных цистронов (возможно, трех), и основные антигены отражают генетическую изменчивость по этим цистронам. В отсутствие каких-либо неопровержимых биохимических данных этот вопрос остается неразрешенным. Определенные выводы можно сделать на основании *cis-trans*-теста. Поскольку составной антиген се обнаруживается только в *cis*-положении  $CE/ce$ , но не в *trans*-положении  $Se/cE$ . Рейс и Сэнгер (1969) [846] высказали гипотезу, согласно которой  $C/c$  и  $E/e$  относятся к одному функциональному гену.

За последние десятилетия накоплено множество фактов, которые свидетельствуют о том, что не только в структурном, но и в количественном отношении экспрессия Rh-фактора находится под строгим генетическим контролем. Розенфельд и соавт. (1973) [860] попытались обобщить все имеющиеся данные на основе новой модели структуры Rh-локуса. Согласно этой мо-

дели, Rh-локус состоит из нескольких областей (структурных генов), несущих информацию о мембранных полипептидах. Эти области находятся под контролем общего оператора или промотора, который регулирует количественную экспрессию, возможно, благодаря нескольким операторным районам, приближенным к единственному структурному гену. Эта модель объединяет фишеровскую концепцию с более поздними результатами молекулярной биологии. Однако биохимические доказательства модели пока отсутствуют.

*Неравновесие по сцеплению.* В процессе обоснования гипотезы о наследовании Rh-комплекса Фишер разработал еще одну концепцию: неравновесие по сцеплению. Обычно сцепление не приводит к ассоциации признаков в популяции (разд. 3.4.1). Даже если в начальной популяции фазы сцепления распределены не случайно, то многократно повторяющийся кроссинговер будет рандомизировать комбинации аллелей в группе сцепления, и в конце концов фазы притяжения и отталкивания для двух сцепленных локусов будут встречаться в популяции с одинаковой частотой. Это случай равновесия по сцеплению. Однако если в начальной популяции существует отклонение от равновесия, то время, за которое оно будет достигнуто, зависит от степени сцепления: чем теснее сцепление, тем больше требуется времени для достижения равновесия. И оно никогда не будет достигнуто, если определенные комбинации аллелей определяют сниженную приспособленность.

Правда, селективный недостаток некоторых аллельных комбинаций Rh-комплекса, способных обусловить снижение их частоты, до сих пор еще не продемонстрирован: отбор работает против гетерозигот (разд. 6.2), но это не означает, что общее снижение приспособленности никогда не существовало или никогда впредь не будет иметь убедительного объяснения в терминах истории популяции. Отвечая на некоторые вопросы, гипотеза Фишера в свою очередь поставила ряд других. Сама по себе концепция неравновесия по сцеплению остается важной в генетическом ана-

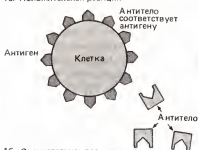
лизе полиморфизма ДНК (разд. 6.1) и главного комплекса гистосовместимости.

### 3.5.5. Главный комплекс гистосовместимости (МНС) [193; 188]

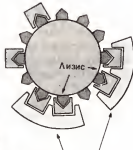
*История.* Давно известно, что кожа, пересаженная от одного индивида другому (аллотрансплантация), через короткое время отторгается. В 1927 г. Бауэр [562] установил, что при пересадке кожи от монозиготного близнеца его партнеру (изотрансплантация) отторжения не происходит. Такая пересадка воспринимается организмом как пересадка собственной кожи (аутоотрансплантация). Таким образом, было доказано, что реакция отторжения детерминирована генетически. В последующие годы изредка появлялись сообщения о пересадках кожи (а позже и о пересадках почки) между монозиготными близнецами. Но исследования по антигенам гистосовместимости у человека начались только тогда, когда выяснилось, что полезными для таких исследований могут быть лейкоциты.

Доссэ (1954) обнаружил, что сыворотки некоторых больных, которым много раз делали переливание крови, содержали агглютинины против лейкоцитов. Впоследствии было установлено, что сыворотки семи таких больных агглютинировали лейкоциты 60% индивидов французской популяции, но не агглютинировали лейкоциты самих больных. Вскоре с помощью близнецовых и семейных исследований удалось показать, что эти изоантитены детерминированы генетически. Другие изоантитены были открыты ван Родом. Еще одним важным достижением можно назвать разработку теста микролимфоцитарной токсичности [911]. И в настоящее время этот метод используется наиболее часто (рис. 3.34, 3.35). В последующем количество вновь открываемых лейкоцитарных антигенов быстро росло, и в 1965 г. было выдвинуто предположение, что большинство из них принадлежит одной генетической системе. На рабочем совещании по гистосовместимости в 1967 г. 16 разных делегаций типировали идентичные пробы, взятые в итальянских семьях. Таким образом, были

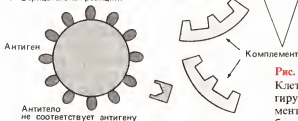
1а. Положительная реакция



2

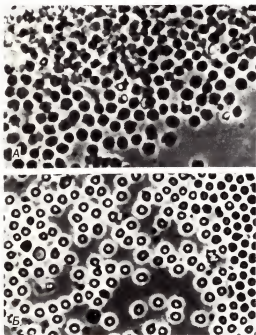


1б. Отрицательная реакция:



Краситель трипановый голубой проникает в клетку через разрушенную мембрану

**Рис. 3.34.** Принцип лимфотоксического теста. Клетка, содержащая определенный антиген, реагирует с соответствующим антителом и комплекментом. Через поврежденную клеточную мембрану краситель трипановый голубой проникает в клетку, что указывает на то, что антиген клеточной поверхности распознан специфическим антителом.



**Рис. 3.35.** Лимфотоксический тест. А. Положительная реакция (клетки окрашиваются). Б. Отрицательная реакция (клетки не окрашиваются). (Courtesy of Dr. Greiner.)

установлены основные соотношения между различными антигенами. И наконец, Киссмейер-Нильсен [739] выдвинул гипотезу о двух тесно сцепленных локусах (А и В), каждый из которых содержит серию множественных аллелей.

*Феномен формирования передовой группы исследователей.* Тем временем в исследованиях по гистосовместимости стал проявляться тот же феномен, который имел место при изучении сцепления методом гибридизации клеток. Сформировалась группа ученых, которые поддерживали между собой тесные контакты, созывали специальные международные совещания, наладили прямой обмен информацией, основали собственный журнал. В этом процессе важную роль сыграло Третье рабочее совещание по гистосовместимости, организованное в 1967 г. Контакты между чле-

нами группы были особенно интенсивными, поскольку типирование HLA существенно зависит от обмена антисывороточным материалом. Изучение работы этой группы в конце 60-х – начале 70-х гг. и той роли, которая принадлежала в ней Бодмеру, Доссэ, Цепеллини, Киссмейеру-Нильсену, ван Роду и Терасаки, представляет большой интерес для истории и социологии современных биологических исследований. Быстрый прогресс в этой области стимулировался не только чисто научным интересом, но и надеждой на то, что полученные результаты будут способствовать успешной трансплантации органов.

*Основные компоненты МНС на хромосоме 6.* Группа сцепления МНС представлена на рис. 3.36. В настоящее время известны четыре локуса основной системы HLA, расположенные в таком порядке: А, С, В, D (локус D будет обсуждаться дальше). Для каждого из них известно много аллелей, которые идентифицируются специальными антисыворотками. Их список вместе с частотами аллелей приведен в табл. 3.8. Частоты аллелей в других популяциях можно найти у Терасаки [910] и Алберта [553]. Частоты генов в сумме не составляют 100%, поскольку некоторые антигены до сих пор неизвестны (пробелы). Концепция четырех полиаллельных серий основывается на следующих фактах.

1. Нет индивидов, которые были бы носителями более двух антигенов из каждого среди четырех наборов.

2. Между этими наборами наблюдается рекомбинация (например, между локусами А и В). К 1975 г. было выявлено 40 кроссоверов на 4614 мейотических делений, таким образом, суммарная частота рекомбинации составила  $40/4614 = 0,0087 = 0,87 \text{ сМ}$ . Имеются данные о десяти А–В-рекомбинантах, информативных с точки зрения расположения локуса С: в восьми случаях локус С следовал за В, в двух – за А. Следовательно, локус С расположен между А и В и, вероятно, немного ближе к В. Когда у одного из родителей присутствуют два антигена из одного набора, то он всегда

передает ребенку один из этих антигенов, а не оба вместе или ни одного. Сегрегационное отношение составляет 0,5 и соответствует простому кодоминантному типу наследования.

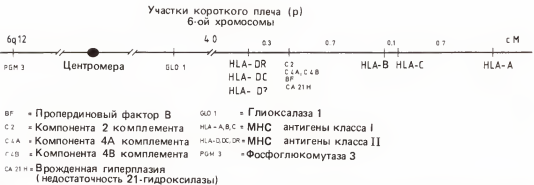
3. Соответствие закону Харди—Вайнберга установлено для каждого из трех наборов аллелей в довольно больших популяционных выборках.

4. Перекрестные серологические реакции характерны для антигенов из одного набора, а не из разных. Это указывает на тесное биохимическое родство антигенов внутри одного набора. На рис. 3.37 на примере одной семьи показано наследование целиком всего комплекса четырьмя из пяти обследованных детей; пятый был кроссовером (рекомбинация между локусами A и C).

*Смешанные культуры лимфоцитов (СКЛ): типирование аллелей локуса HLA-D. Если*

лимфоциты двух индивидов совместно культивируются *in vitro*, то, как правило, они стимулируют друг друга к делению. Эта реакция происходит благодаря тому, что на поверхности лимфоцитов имеются и антигены, и рецепторы к другим антигенам. В одностороннем тесте СЛК деление самих стимулирующих лимфоцитов подавлено предварительным воздействием радиации или обработкой митомицином С (рис. 3.38). Фенотип клеток «ответчиков» (репондеров) можно установить, используя разные линии клеток «стимуляторов» с известным генотипом.

Типирование антигенов локуса HLA-D осуществляли с помощью смешанной культуры лимфоцитов. Были разработаны также и новые методы, использующие феномен иммунологической памяти, которая формируется *in vitro* с помощью смешанной культуры лимфоцитов. Тест на наличие антигенов HLA-D основан на быстром и



**Рис. 3.36.** Группа сцепления локусов главного комплекса гистосовместимости (MHC) на хромосоме 6. HLA-комплекс расположен на расстоянии 15 cM от гена PGM<sub>3</sub> и на расстоянии 10 cM от локуса фермента глиоксалазы (GLO). Внутри

HLA-комплекса наиболее вероятна последовательность D-B-C-A. В этом же районе расположены другие гены, вовлеченные в иммунный ответ, например те, которые детерминируют компоненты комплемента (C<sub>2</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>3</sub>, BF).

**Рис. 3.37.** Родословная с кроссинговером между генами HLA-A и HLA-C главного комплекса гистосовместимости. Кроссинговер между A и C должен был произойти в гаметах отца и привести к гаплотипу 1, 2, 27 у пятого ребенка [193].

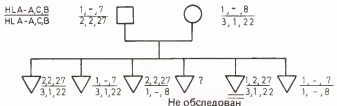


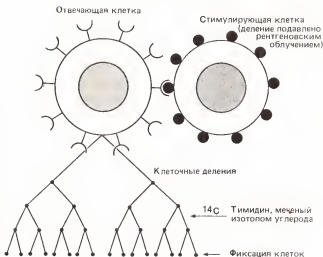
Таблица 3.8. Номенклатура аллелей HLA-системы и их частоты для европейских народов

HLA-A	Частота	HLA-B	Частота	HLA-C	Частота	HLA-D	Частота	HLA-DR	Частота
A1	0,149	B5		Cw1	0,041	Dw1	0,069	DR1	0,069
A2	0,260			Cw2	0,051	Dw2	0,075	DR2	0,134
A3	0,116			Cw3	0,101	Dw3	0,082	DR3	0,108
A9		B7	0,088	Cw4	0,121	Dw4	0,053	DR4	0,096
A10		B8	0,082	Cw5	0,060	Dw5	0,056	DR5	0,103
A11	0,059	B12		Cw6	0,079	Dw6	0,103	DRw6	0,022
Aw19		B13	0,028	Cw7	0,023	Dw7	0,103	DR7	0,125
Aw23(9)	0,023	B14	0,030	Cw8	0,019	Dw8	0,031	DRw8	0,027
Aw24(9)	0,096	B15		C — <sup>b</sup>	0,506	Dw9	0,014	DRw9	0,011
A25	0,019	Bw16				Dw10	0,026	DRw10	0,007
A26	0,037	B17				Dw11	не тестирован	DR — <sup>b</sup>	0,298
A28	0,040	B18	0,058			Dw12	не тестирован		
A29	0,038	B21				D — <sup>b</sup>	0,388		
Aw30	0,024	Bw22							
Aw31	0,027	B27	0,039						
Aw32	0,045	Bw35	0,095						
Aw33	0,017	B37	0,015						
Aw34	0,006	Bw38 <sup>a</sup> (w16)	0,025						
Aw36	0,003	Bw39 <sup>a</sup> (w16)	0,021						
Aw43	0,000	B40							
A — <sup>b</sup>	0,043	Bw41	0,010						
		Bw42	0,003						
		Bw44 <sup>a</sup> (12)	0,110						
		Bw45 <sup>a</sup> (12)	0,011						
		Bw46	не тестирован						
		Bw47	0,004						
		Bw48	0,005						
		Bw49 <sup>a</sup> (w21)	0,023						
		Bw50 <sup>a</sup> (w21)	0,012						
		Bw51 (5)	0,072						
		Bw52 (5)	0,015						
		Bw53	0,009						
		Bw54 <sup>a</sup>	0,000						
		Bw55 <sup>a</sup> (w22)	0,022						
		Bw56 <sup>a</sup> (w22)	0,006						
		Bw57 <sup>a</sup> (17)	0,031						
		Bw58 <sup>a</sup> (17)	0,011						
		Bw59	0,005						
		Bw60 <sup>a</sup> (40)	0,034						
		Bw61 <sup>a</sup> (40)	0,017						
		Bw62 <sup>a</sup> (15)	0,053						
		Bw63 (15)	0,005						
		B — <sup>b</sup>	0,061						
		Bw4	0,411						
		Bw6	0,589						

<sup>a</sup> Эти антигены четко отличаются от детерминант, указанных в скобках.<sup>b</sup> Еще невыявленные аллели. Их частоты получены вычитанием из единицы суммы всех остальных частот.



**Рис. 3.38.** Принцип методики смешанной культуры лимфоцитов. Стимулирующие клетки, деление которых подавляется рентгеновским облучением, контактируют с отвечающими клетками, заставляя их делиться. Деление можно зарегистрировать с помощью меченого тимидина. Отсутствие сигнала радиоактивного углерода  $^{14}\text{C}$  в составе тимидина свидетельствует об отрицательной реакции (отсутствие соответствующего рецептора на отвечающих клетках).



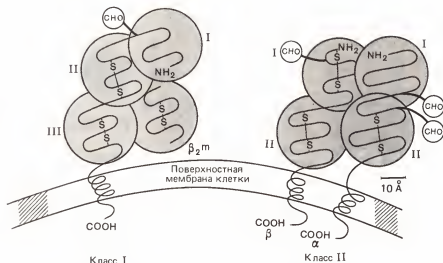
сильном ответе на рестимуляцию антигеном, который использовался для иммунизации *in vivo*. Этот тест был назван «первичным типированием лимфоцитов» (ПТЛ).

Независимо от этих методов антигены HLA-D можно типировать стандартным лимфотоксическим тестом, проводимым на обогащенных В-лимфоцитами клеточных суспензиях. В противоположность антигенам HLA-A, HLA-B и HLA-C, которые экспрессируются на поверхности Т- и В-клеток, антигены HLA-D обнаруживаются преимущественно на В-клетках и макрофагах. Впрочем, пока еще остается открытым вопрос, полностью ли идентичны HLA-D-антигены, выявляемые СКЛ-типированием и серологическими реакциями. На рис. 3.39 представлены биохимическая модель белков HLA и их топография на клеточной мембране. HLA-район анализировали также на молекулярном уровне с помощью методов рекомбинантных ДНК (разд. 2.3). Были идентифицированы и секвенированы нуклеотидные последовательности генов основных классов HLA-антигенов и родственных им генов и псевдогенов, кроме того, обнаружен полиморфизм по сайтам рестрикции [621; 652; 839].

**Компоненты комплемента.** Комплемент представляет собой набор по крайней мере десяти белковых факторов, присутствующих в свежей (неконсервированной) сыворотке крови. Их обозначают C1, C2, C3 и т.д. Первый из них активируется антителами к соответствующим антигенам, а C1 активирует затем C4. Этот последний активирует C2 и так далее. Конечным результатом этого «каскада активаций комплемента» является повреждение клеточной мембраны, несущей антиген, а часто и лизис клетки. Кроме того, активированные компоненты комплемента обладают рядом других биологических свойств, таких, как хемотаксис или высвобождение гистамина. Они играют важную роль медиаторов иммунного ответа организма на микробную инфекцию.

Система комплемента активируется не только фактором C1 (классический путь), но также и фактором C3 – альтернативный путь, использующий «пропердиновые факторы», в частности фактор В (BF), который действует как «проактиватор» компонента C3.

Для некоторых компонентов комплемента известны случаи наследственного дефицита функции и, кроме того, выявлен



**Рис. 3.39.** Размещение доменов в антигенах класса I (HLA-A, B, C) и класса II (HLA-D/DR). Римские цифры обозначают домены.  $\beta_2m$  –  $\beta$ -микроглобулин, CHO – карбогидрат [729a].

полиморфизм. Полиморфными являются компоненты C2, C3, C4 и, возможно, C6. Локусы факторов C2 и C4 принадлежат к одной группе сцепления вместе с локусами главного комплекса гистосовместимости, как и локус пропердинового фактора В (с основными аллелями  $BF^F$  и  $BF^S$ ). С другой стороны, локус C3 (с аллелями  $C3^F$  и  $C3^S$ ) расположен в другом районе генома.

*Антигены, ассоциированные с локусом HLA.* В разд. 3.7.3 будут обсуждаться факты наличия таких антигенов у мыши и их возможная роль в ассоциациях комплекса HLA и заболеваний у человека. Эксперименты свидетельствуют о расположении таких генов в непосредственной близости к локусу HLA-D/DR.

*Сцепление с другими маркерами.* В 1971 г. было установлено, что локусы MHC сцеплены с геном PGM3 (фосфоглюкомутаза-3). Расстояние по карте от HLA составляет примерно 15 сМ у мужчин и 30–45 сМ у женщин. Локус PGM3 расположен в длинном плече хромосомы 6 (рис. 3.36) и, по-видимому, находится ближе к локусу В,

чем к А. Локус другого фермента, гидроксилазы-1, расположен между PGM3 и HLA, но уже в коротком плече этой хромосомы. Сцепление с PGM3 дает возможность отнести всю группу сцепления к хромосоме 6 с помощью метода гибридизации клеток и расположить ее, с большей долей вероятности, на расстоянии 75 сМ от центromеры.

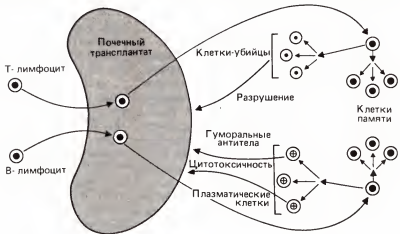
Свейгард и соавт. (1975) [193] высказали интересную мысль о возможном параллелизме между PGM и Rh-системой: расстояние между комплексом Rh и локусом PGM-1 в хромосоме I составляет 35 сМ (у мужчин). Возможно, что эти две группы сцепления имеют общее происхождение. В таком случае комплекс Rh эволюционировал в систему поверхностных антигенов, специфичных к эритроцитам, а комплекс HLA – в сходную систему, но специфичную не к эритроцитам, а ко многим другим типам клеток. У человека и крупного рогатого скота имеются обе эти системы. С другой стороны, у мыши и курицы имеется только одна комплексная система групп крови, которая контролирует антигены как на эритроцитах, так и на лейкоцитах.

*Значение HLA для трансплантации органов.* Один из основных стимулов быстрого прогресса наших знаний о HLA-антигенах связан с надеждой повысить эффективность трансплантации органов, в первую очередь почек. Действительно, почки от HLA-идентичных и ABO-совместимых сибсов приживаются почти с такой же частотой, как при пересадках у монозиготных близнецов. Частота приживаемости ниже в случае пересадок к неродственным реципиентам, даже если соответствие HLA-систем настолько хорошее, насколько это только возможно, и обеспечена совместимость по системе ABO. Это говорит о том, что помимо главного комплекса гистосовместимости, системы HLA, должны существовать и другие системы, важные для пересадки органов. В этом нет ничего неожиданного. У мыши известно большое количество таких систем. Почти при всех пересадках эти системы приводят к реакциям отторжения типа «организм хозяина против пересаженного органа» (рис. 3.40). Однако часто этими реакциями можно управлять с помощью иммуносупрессивной терапии. В настоящее время шансы на приживаемость и длительность нормального функционирования пересаженных почек существенно увеличены (табл. 3.9).

Учитывая высокую степень полиморфизма и низкие частоты аллелей системы HLA, успешный подбор подходящего реципиента (не сибса) для пересадки почек требует широкомасштабных международных мероприятий. В настоящее время результаты по трансплантации органов нельзя назвать очень успешными, по-видимому, дальнейшие исследования механизмов гистосовместимости приведут к их улучшению.

*Неравновесие по сцеплению.* Одна из наиболее важных характеристик системы HLA – свойство некоторых HLA-аллелей встречаться вместе чаще, чем это можно было бы ожидать при случайном комбинировании. В табл. 3.10 приведены некоторые примеры. Например, гаплотип (A1, B8) встречается примерно в пять раз чаще, чем ожидается.

Рассмотрим два аллеля двух сцепленных локусов с частотами  $p_1$  и  $p_2$ . При свободной рекомбинации между ними их совместная частота  $h$ , т. е. частота гаплотипа, должна составлять  $p_1 \cdot p_2$ . Если получен такой результат, то говорят, что эти два локуса находятся в равновесии по сцеплению. Если частота гаплотипа  $h$  выше, чем ожидается при свободной рекомбинации,



**Рис. 3.40.** Упрощенная схема активации иммунной системы почечным аллотрансплантатом. Трансплантат распознается как чужой для организма-реципиента T- и B-лимфоцитами. Это приводит к активации клеточного и опухолерожденного иммунного ответа [193].

Таблица 3.9. Влияние HLA-антигенов на пересадку органов [889]

	Донор	Реципиент	Пересадка		
			кожи (средняя приживаемость в днях)	почки (приживаемость в течение 1 года, %)	костного мозга
Сибсы	$a/c \rightarrow$	$a/c$	20,0	90	Часто успешно
	$a/d \rightarrow$	$a/c$	13,8	70	Неудачно
	$b/d \rightarrow$	$a/c$	12,5	60	— » —
Неродственники	$x/y \rightarrow$	$a/c$	12,1	50	— » —

Буквы  $a, b, c, d, x$  и  $y$  соответствуют разным HLA-гаплотипам. Все трансплантаты были совместимы по группам крови АВО. Данные по пересадке кожи взяты у Цепеллини. Цифры, характеризующие приживаемость почки, представляют собой приблизительные значения и взяты из работ Оелза и Тореби.

Таблица 3.10. Неравновесие по сцеплению (гапетическая ассоциация) [889]

Гаплотип			Частота (%)	
A	B	D	наблюдае-мая	ожидае-мая
A1	B8		9,8	2,1
A3	B7		5,4	2,1
	B8	Dw3	8,6	1,4
	B7	Dw2	3,9	1,8

Ожидаемые частоты гаплотипов вычислены в предположении об отсутствии ассоциации.

то существует неравновесие по сцеплению ( $\Delta$ ), которое часто полагают равным  $\Delta = h - p_1 p_2$ . Частоты гаплотипов и генов можно оценить из семейных и популяционных данных. В семьях гаплотипы родителей в большинстве случаев могут быть восстановлены по гаплотипам детей. Например, в семье, показанной на рис. 3.37, один из гаплотипов матери должен быть (3, 1, 22), поскольку она передала его трем своим детям. О частоте единичных аллелей можно судить по данным о той же самой выборке неродственных индивидов, а затем можно вычислить величину неравновесия по сцеплению  $\Delta$ . В выборке из случайно скрещивающейся популяции отклонение от равновесия по сцеплению оценивают с помощью критерия хи-квадрат (таблица со-

пряженности  $2 \times 2$ ), как показано в табл. 3.11 для выборки из датской популяции (данные и расчеты взяты из работы [193]).

В системе HLA отклонения от равновесия по сцеплению выражены довольно отчетливо. Эта ситуация сходна с той, которая была описана выше для системы Rh (разд. 3.5.4), но имеется одно важное отличие. В системе Rh обнаружен только один случай рекомбинации, тогда как для HLA-системы известно много таких случаев. Следовательно, сцепление в Rh-системе намного сильнее, чем в системе HLA. Если один случай кроссинговера в Rh-системе можно не принять во внимание или объяснить внутрицистронным обменом, то существует возможность рассматривать Rh-локусы в качестве истинных аллелей; D, C, c, E и e могут быть в этом случае характеристическими сайтами внутри одного полипептида. Для HLA-локусов такая гипотеза не подходит: расстояния между ними намного больше и об аллельных взаимодействиях говорить не приходится.

Как упоминалось выше, факты неравновесия по сцеплению, как и собственно идентификация генов иммунного ответа (Ig) у мыши, стимулировали в последние годы многочисленные попытки поиска ассоциаций HLA-системы с заболеваниями, которые оказались в ряде случаев успешными (разд. 3.7.3).

Неравновесие по сцеплению может быть вызвано двумя причинами.

1. Какие-либо две популяции, гомозиготные по разным гаплотипам, смешались относительно недавно, и происходящий с низкой частотой кроссинговер еще не обеспечил случайное распределение аллелей.

2. Определенные комбинации аллелей тесно сцепленных локусов дают селектив-

**Таблица 3.11.** Ассоциация HLA-A1 и B8 в случайной выборке датчан (таблица  $2 \times 2$ ) [889]

	Число индивидов		Сумма
	B8-положительные	B8-отрицательные	
A1-положительные	376	235	611
A1-отрицательные	91	1265	1356
Сумма	467	1500	1967

Эта таблица часто приводится в следующем виде:

Первый антиген	Второй антиген	+/+	+/-	-/+	-/-	Сумма N
A1	B8	376	235	91	1265	1967

где, например, +/— означает количество индивидов, у которых присутствует первый признак (A1) и отсутствует второй (B8). Хи-квадрат равен

$$\chi^2 = \frac{(ad - bc)^2 N}{(a + b)(c + d)(a + c)(b + d)} = 699,4,$$

что соответствует коэффициенту корреляции

$$r = \sqrt{\chi^2 / N} = \sqrt{699,4 / 1967} = 0,60.$$

Частоты генов A1 и B8 можно вычислить по формуле Бернштейна

$$p = 1 - \sqrt{1 - a},$$

где  $a$  — частота антигена. Они получают равными 0,170 и 0,127 соответственно.

Значение  $\Delta$  можно вычислить по формуле

$$\Delta = \sqrt{\frac{d}{N}} - \sqrt{\frac{(b + d)(c + d)}{N^2}} = 0,077.$$

Таким образом, частота  $h_{A1, B8}$  гаплотипов HLA-A1 и B8 равна

$$h_{A1, B8} = P_{A1} P_{B8} + \Delta_{A1, B8} = 0,170 \cdot 0,127 + 0,077 = 0,099.$$

ные преимущества их носителям и, следовательно, сохраняются при отборе.

Чтобы решить, какую из этих двух возможностей выбрать, Бодмер (1972) [581] вычислил, как долго будет сохраняться неравновесие в случайно скрещивающейся популяции. Для этих вычислений он использовал результат Дженнинга (1917), в соответствии с которым величина показателя  $\Delta$  стремится к нулю со скоростью  $1 - \theta$  за поколение, где  $\theta$  — частота рекомбинаций между двумя локусами. Между локусами HLA-A и HLA-B величина  $\theta$  составляет примерно 0,008. Если взять в качестве примера неравновесие по сцеплению между HLA-A1 и B8, то для европейских популяций значения  $\Delta$  будут равны примерно 0,06–0,1. С другой стороны, для разумных размеров выборок значения  $\Delta$  в пределах 0,01–0,02, оказываются статистически незначимыми. Следовательно, можно определить, сколько нужно поколений, чтобы уменьшить  $\Delta$  в 5 раз с 0,1 до 0,02.

Используя вышеупомянутый принцип Дженнинга, получаем

$$(1 - \theta)^n = (1 - 0,008)^n = 1/5; \quad n \approx 200.$$

Это означает, что  $\Delta$  должно уменьшиться до незначимого уровня примерно за 200 поколений или 5000 лет, если смена поколений происходит приблизительно через 25 лет.

С точки зрения эволюции человеческого вида 5000 лет — ничтожный срок. Тот факт, что величина  $\Delta$  может сойти на нет за такое короткое время при отсутствии отбора, предполагает, что по крайней мере для этого конкретного гаплотипа (HLA-A1, B8) его частота поддерживается на сравнительно высоком уровне действием отбора определенного типа [581]. Мы считаем весьма вероятным, что отбором можно объяснить также некоторые другие распространенные случаи неравновесия по сцеплению и что влияние недавно произошедшего слияния популяций не имеет большого значения. Определенные гаплотипы обладают, по-видимому, селективным преимуществом, и это поддерживает более высокую их частоту в популяции по сравнению с другими. Вместе с тем это

селективное преимущество не может быть прямо связано с теми заболеваниями, для которых в настоящее время обнаружены ассоциации, поскольку заболевания эти слишком редкие. Кроме того, для большинства из них характерно позднее начало. Следовательно, необходимо искать факторы, которые в прошлом могли влиять на выживаемость до репродуктивного возраста. Эта тема будет обсуждаться в разд. 6.2.1.

*Нормальная функция HLA-системы.* Антигены этой системы локализованы на поверхности клетки и относятся к так называемым сильным антигенам; они высокополиморфны, и неравновесие по сцеплению существует не только между самими локусами HLA, но, вероятно, также между ними и тесно сцепленными генами иммунного ответа. Ассоциации обнаружены между HLA-антигенами и теми заболеваниями, для которых ранее предполагался аутоиммунный механизм. Кроме того, подобные системы выявлены у всех исследовавшихся до сих пор млекопитающих. Наконец, обнаружено тесное сцепление с другими локусами, имеющими отношение к иммунному ответу. Все эти факты вместе наводят на мысль о существовании сложной целостной системы, регулирующей контакт клеток со средой. В последние годы выяснены многие детали этой функции. Для кооперации различных клеток на разных стадиях иммунного ответа требуется идентичность в отношении HLA-антигенов. Такая кооперация имеет место, например, когда макрофаги, будучи первыми антигенсвязывающими клетками, переносят этот антиген к Т-лимфоцитам, а затем Т- и В-лимфоциты совместно иницируют формирование антител (разд. 4.4). Было показано *in vitro*, что разные гаплотипы различаются по эффективности иммунного ответа, например индукцией пролиферации Т-клеток [623; 942]. Следовательно, поверхностные структуры этих клеток служат важными медиаторами иммунной реакции. Некоторые исследователи полагают, что механизмы распознавания клеток играют важную роль в эмбриональном развитии и дифференцировке, особенно когда они дей-

ствуют в клетках только определенного типа. Например, Ia-антигены присутствуют у мыши на В-лимфоцитах, макрофагах и других определенных клетках, но не (или редко) на Т-лимфоцитах или тромбоцитах. Ig-гены первично действуют на совокупность В- и Т-лимфоцитов. С другой стороны, антигены HLA-A, HLA-B и HLA-C присутствуют во всех клетках, кроме эритроцитов. Более конкретная версия состоит в том, что эти антигены важны для развития разных клонов иммунокомпетентных клеток во время эмбрионального развития. Однако гипотеза антигенов дифференцировки не объясняет селективное значение высокой степени полиморфизма этой системы.

Другая возможная функция – это защита от вирусной или бактериальной инфекции. Антигенный материал человеческого происхождения может быть включен во внешнюю мембрану вируса, в результате чего этот вирус труднее распознается организмом другого человеческого индивида. Однако, если вирус содержит МНС-материал от генетического отличного индивида, он может быть намного легче инактивирован иммунной системой. Такой механизм объясняет, почему высокий полиморфизм МНС-системы имеет селективное преимущество. Другая возможная функция МНС-района – защита от «заражения» опухолевыми клетками других особей того же вида. С таким объяснением хорошо согласуются наши представления о важной роли МНС-системы при трансплантации, а также высокая степень ее полиморфизма. Дальнейшее выяснение свойств и функций главного комплекса гистосовместимости поможет нам решить многие проблемы, например: как организм управляет своим взаимодействием со средой и как недавние изменения в окружающей среде могут повлиять на генетическую конституцию в будущем. Полезно задать следующие вопросы: существуют ли в природе другие примеры таких генных кластеров с родственными функциями? Может ли их анализ изменить что-то в наших представлениях о кластере МНС? На самом деле, один такой пример, уже очень тщательно проанализированный, существует – это мимикрия у бабочек.

### 3.5.6. Генетическая детерминация мимикрии у бабочек

Отметим сразу, что знакомство с этим разделом не обязательно для понимания принципов генетики человека.

*Ложная предупредительная окраска* [866]. В процессе эволюции у некоторых животных формировались определенные защитные приспособления против своих врагов, например защитная или предупредительная окраска. Последняя типична для тех видов, представители которых относительно неприятны на вкус для их врагов. С другой стороны, представители относительно «вкусных» видов («имитаторов») могут защититься от своих врагов, если примут предупредительную окраску несъедобных видов («моделей»). Бейтс (1862) пришел к выводу, что такая ложная предупредительная окраска могла создавать селективные преимущества ее носителям и должна была возникнуть в ходе эволюции. Это явление известно как бейтсовская мимикрия.

Защитный механизм, для того чтобы выполнять свои функции, должен удовлетворять определенным требованиям:

1) модель должна быть несъедобной или уметь защищаться;

2) она должна иметь отличительный цветовой узор;

3) она должна быть распространенной, хотя не обязательно более распространенной, чем имитатор. Если модель будет встречаться много реже, чем имитатор, то у «пожирателя» практически не останется шансов убедиться в защитных способностях модели, и поэтому он не будет отказываться от имитатора;

4) модель и имитатор должны обитать вместе в одном ареале и в одно время;

5) имитатор должен быть очень похож на модель. Однако это сходство ограничивается лишь макроморфологией, цветовыми узорами или поведением. Как говорил Шепард, «он должен обманывать художника («пожирателя»), охотящегося с помощью зрения), но не анатома».

«Бейтсовская» мимикрия отличается от «мюллеровской» мимикрии, которая состоит в том, что два несъедобных вида подражают друг другу и, тем самым снижают количество особей каждого вида, гибнущих в процессе обучения «пожирателей». Бейтсовская мимикрия – весьма распространенное явление, в особенности среди некоторых видов бабочек.

*Распространение мимикрии среди бабочек. Papilio memnon* – бабочка-парусник, широко распространенная в Юго-Восточной Азии от Индии и

Цейлона до Филиппин и Молуккских островов. Самцы мономорфны, не имеют защитной окраски и выступают на крыльях вездех, кроме островов Палауаи и Целибес, где распространены особи с «хвостами» на крыльях. В Японии самки также мономорфны, не имеют защитной окраски и «хвоста», хотя по виду все же отличаются от самцов. В других регионах самки имеют защитную окраску, а если нет, то этот вид полиморфен. Ряд видов бабочек служит в качестве «моделей», и сходство между «моделью» и «имитатором» часто бывает очень сильным. На рис. 3.41, Б в качестве примера показаны: самка *P. coon* (с острова Ява) – модель и самки *P. memnon f. achates* – имитатор. На рис. 3.41, В показаны немимикрирующие формы *P. memnon*: самец и самка.

Очень сходные данные получены при исследовании африканских видов *P. dardanus*. Как и в случае *P. memnon*, самки высокополиморфны внутри одной и той же популяции: наблюдались имитаторы для разных моделей, а также немимикрирующие формы. Это можно понять в терминах обсуждавшихся выше условий бейтсовской мимикрии. Когда имитаторов становится слишком много по сравнению с моделью, они утрачивают свое селективное преимущество. Единственный способ сохранить превосходство и одновременно увеличить размер популяции выше определенного минимума состоит в приобретении такого полиморфизма, который дает возможность данному виду имитировать одновременно по крайней мере две модели.

*Генетическая детерминация.* Генетический анализ показал, что мимикрия у бабочек контролируется кластером тесно сцепленных генов, «супергеном», кроссинговер внутри которого происходит крайне редко. При этом гаплотипы, подобно набору аллелей с широким плейотропным эффектом, влияя одновременно на окраску тела, форму и рисунок крыла. Имеются, однако, убедительные данные о том, что кроссинговер внутри кластера все же идет. Наиболее вероятная последовательность локусов такова, что гены, контролирующие окраску тела (В) и наличие или отсутствие «хвоста» (Т), расположены в противоположных концах генного кластера, а гены, контролирующие рисунок на задних крыльях (W), окраску эпюлет (Е) и рисунок на передних крыльях (F), расположены, по-видимому, между ними. Вероятная последовательность локусов определена на основе сравнения частот кроссоверов и некроссоверов в исследованных популяциях. Таким образом, логика в рассуждении в этом случае та же, что и у Фишера, когда он обосновывал последова-



**Рис. 3.41.** Бейтсовская мимикрия у *Papilio tetton*. А. Модель, *Papilio coon* ♀. Б. Имитатор, *P. tetton* ♀. В. *Papilio tetton* ♂ из Японии [866].



тельность генов D – C – E внутри Rh-локуса. Кроме того, из имеющихся данных можно заключить, что кроссоверы очень редки в исследованных популяциях бабочек и что имеет место существенное неравновесие по сцеплению.

*Сходство с комплексом МНС.* Имеются два сходных момента в анализе мимикрии у бабочек и в анализе главного комплекса гистосовместимости. Во-первых, существует кластер генов с родственными функциями. У бабочек эти гены детерминируют мимикрирующие узоры, у человека они влияют, вероятно, на возможность клетки манипулировать средовыми агентами. Во-вторых, обе системы характеризуются высоким полиморфизмом и существенным неравновесием по сцеплению. Как может изучение бабочек помочь в понимании эволюции генового кластера главного комплекса гистосовместимости?

Характер естественного отбора по узору у бабочек можно понять, только исходя из того, что бейтсовская мимикрия создает селективное преимущество. Оно могло возникнуть вследствие случайно унаследованной подходящей комбинации генов, детерминирующей определенный узор. Однако это преимущество немедленно утрачивается, как только узор нарушается вследствие кроссинговера: только узор как целое, а не отдельные его части, дает преимущество. Оно могло сохраниться в следующем поколении, если (например, вследствие хромосомной перестройки) по крайней мере два таких гена наследуются вместе (в одной и той же хромосоме), что повышает вероятность их совместного наследования в дальнейшем. Отбор в этом направлении способствовал последовательному накоплению таких генов в общем кластере. Однако он был либо недостаточно сильным, либо действовал недостаточно долго, чтобы полностью исключить кроссинговер. Хотя редкий кроссинговер внутри кластера стремится разрушить мимикрирующий узор, кроссоверы в свою очередь намного чаще поглощаются «пожирателями». Селективный недостаток кроссоверов способствует тем самым поддержанию неравновесия по сцеплению.

Однако все это не объясняет высокую степень полиморфизма, возникновение которого остается непонятным и с точки зрения динамики популяционных частот конкурирующих форм. Как уже говорилось, имитаторы утрачивают свое преимущество, если их численность в популяции начинает превышать численность модели (частотно-зависимый отбор, см. разд. 6.2.1.5). Следовательно, преимущество поддерживается только в том случае, когда лишь часть особей из популяции имеет защитный фенотип. Это пре-

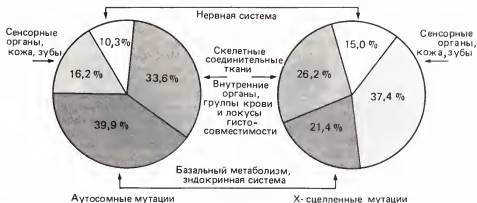
имущество усилится еще больше, если разные части популяции имитируют разные модели, распространенные в среде их обитания.

Эволюцию МНС-кластера можно объяснить, если считать, что некоторые комбинации генов, принадлежащих этому кластеру, обеспечивают лучшее взаимодействие со средой, чем другие. В таком случае некрсоверы имеют селективное преимущество и становятся понятным неравновесие по сцеплению. Однако аналогия с мимикрией у бабочек не может быть столь же прямой, когда мы хотим объяснить сохранение высокого уровня полиморфизма. Учитывая огромное разнообразие вирусов и бактерий, способных поражать человека, разумно предположить, что значительное увеличение частоты индивидов, устойчивых к патогенному микроорганизму, легко может привести к отбору мутантных форм, особенно эффективных для инфицирования индивидов с таким генотипом. Тем самым выработанная ранее адаптация этих генотипов утрачивается. Итак, полиморфизм человека может быть ответом на «вызов» многообразия мутантных форм вируса. К этой теме мы вновь вернемся в разделе о естественном отборе вследствие инфекционных заболеваний.

### 3.5.7. Гены X-хромосомы человека, имеющие родственные функции

В ходе эволюции млекопитающих X-хромосома в отличие от аутосом оставалась относительно неизменной. Существует несколько фактов, указывающих на гомологию X-хромосом разных видов [156]. Важная особенность этой хромосомы состоит в том, что она присутствует в единственном экземпляре у мужчин и в двух экземплярах у женщин – различие, которое не компенсируется полностью X-инактивацией (разд. 2.2.3.3). Существует ли какой-нибудь намек на то, что X-сцепленные гены представляют собой неслучайную выборку всех генов человека? Обнаруживают ли они какие-либо особенности? Для того чтобы ответить на эти вопросы, все X-сцепленные и аутосомные мутации человека разбили на четыре категории [920].

1. Мутации, поражающие органы чувств (глаз, внутреннее ухо), кожу и зубы.
2. Мутации, поражающие мозг и нервную систему.
3. Мутации, детерминирующие структурные аномалии скелета, мышц, соединя-



**Рис. 3.42.** Возможная кластеризация X-сцепленных мутаций, затрагивающих сенсорные органы, кожу, зубы и нервную систему у человека. Четыре фенотипические группы содержат 1029 ауто-

сомных и 92 X-сцепленных мутаций. (По McKusick, 1982 [113], приводятся только подтвержденные мутации.)

тельной ткани, внутренних органов (например, сердца и пищеварительного тракта); антигены клеточных мембран (антигены эритроцитов и комплекса гистосовместимости); опухоли.

4. Мутации, затрагивающие основные метаболические процессы, вызывающие нарушение свертываемости и другие болезни крови; полиморфизм ферментов и сывороточных белков; болезни эндокринной системы.

На рис. 3.42 приведен результат сравнения частот среди X-сцепленных и аутосомных мутаций четырех указанных групп: наиболее частыми среди X-сцепленных мутаций оказываются мутации категорий 1 и 2. Статистическое сравнение 1+2 и 3+4 между X-сцепленными и аутосомными мутациями даст значимую величину  $\chi^2_1 = 17,4$  ( $P < 0,01$ ). Кроме того, категория 4 содержит ряд X-сцепленных мутаций, оказывающих влияние на эндокринные функции нейрогипофиза, которые в равной степени можно отнести и к категории 2. Следовательно, «высшие» функции, связанные с нервной системой и сенсорными органами, представлены в X-хромосоме человека в объеме выше среднего, тогда как гены, детерминирующие структуру тела и основные метаболические процессы, встречаются реже.

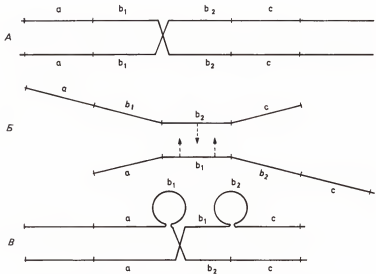
Необходимо, однако, указать, что регистрация и классификация мутаций у человека никогда не была систематической. Критерии распознавания X-сцепленных мутаций отличаются от таковых для аутосомных и в особенности для аутосомно-рецессивных мутаций. Смещение подобного рода могло привести к ложным различиям между X-хромосомой и аутосомами. Тем не менее реальная кластеризация генов с родственными функциями весьма возможна. У дрозофилы, для которой регистрация мутаций является намного более полной, описаны значимые отклонения от случайного распределения мутаций, поражающих различные системы органов [648]. Если при более детальном анализе различие между X-хромосомой и аутосомами у человека окажется реальным, то уместны следующие вопросы. Связано ли это различие с какими-либо особыми свойствами X-сцепленных генов в отношении регуляции генового действия? Снижают ли эти гены риск возникновения рецессивных леталей вследствие мутаций и является ли это важным селективным преимуществом в ситуации, когда каждый второй индивид — это гемизиготный мужчина, который может быть элиминирован действием рецессивной летали? Или, кластеризация является лишь простым отражением эволюционной истории этих генов?

### 3.5.8. Неравный кроссинговер

*Открытие неравного кроссинговера.* В первые годы работы с дрозофилой некоторые авторы обратили внимание на то, что мутация *Bar* (Х-сцепленный доминантный признак) иногда ревертировалась к нормальному фенотипу. Гомозиготы по этому аллелю давали потомство, несущее новый аллель, позже названный «двойной *Bar*», с еще более выраженным эффектом. Стертевант (1925) [904] показал, что такое необычное поведение было следствием не точковых мутаций, а неравного кроссинговера, приводящего к появлению хромосомы с двумя локусами *Bar* (двойной *Bar*) и одновременно хромосомы вовсе без этого локуса. Когда методика работы с гигантскими хромосомами слюнных желез дрозофилы позволила визуально проверять генетические гипотезы, Бриджесу (1936) [588] удалось показать, что простая доминантная мутация *Bar* была вызвана дубликацией хромосомного диска. Реверсия соответствует недуплицированному состоянию, тогда как двойной *Bar* вызывается трипликацией это-

го диска. Как реверсия, так и трипликация порождаются одним-единственным событием неравного кроссинговера. Тем не менее Бриджес не сформулировал четко причину этого события, по его мнению, она заключается в ошибочном спаривании «структурно-гомологичных», а не «позиционно-гомологичных» хромосомных сайтов (рис. 3.43, 2.97).

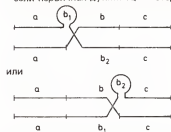
*Неравный кроссинговер в генетике человека.* Гемоглобин – транспортный белок для гемоглобина, содержащийся в сыворотке крови [584a]. Наиболее распространенные в популяции аллели обозначаются  $HP^{1F}$ ,  $HP^{1S}$  и  $HP^2$ . В 1962 г. было обнаружено [884], что аллель  $HP^2$ , судя по первичной структуре соответствующей полипептидной цепи, почти вдвое длиннее каждого из двух аллелей  $HP^{1F}$  и  $HP^{1S}$ . В  $HP^2$ -цепи аминокислотная последовательность  $HP^1$ -цепи повторяется почти полностью. Авторы сделали вывод о том, что аллель  $HP^2$  возник в результате генной дубликации. Кроме того, они предсказали, что существует относительно высокая вероятность



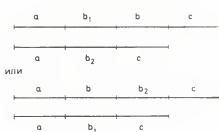
**Рис. 3.43.** Принцип неравного кроссинговера. А. Нормальное спаривание и кроссинговер. Предполагается, что два гена  $b_1$  и  $b_2$  имеют одинаковые последовательности ДНК. В. Гены  $b_1$  и  $b_2$

спариваются. Это ведет к сдвигу двух гомологичных хромосом относительно друг друга. В. Такое спаривание возможно при образовании двух петель на одной из хромосом.

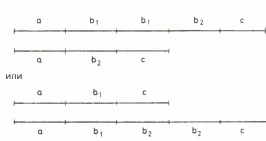
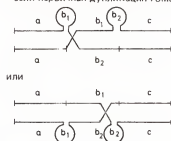
**А** Гомологичный неравный кроссинговер, если первичная дупликация гетерозиготна



Продукты кроссинговера



**Б** Гомологичный неравный кроссинговер, если первичная дупликация гомозиготна



**Рис. 3.44.** Неравный кроссинговер между генами, гомологичными по структуре, но негомологичными по положению. **А.** Неравный кроссинговер всегда будет приводить к одному кроссоверу с дупликацией гена  $b$  ( $b_1b$  или  $bb_2$ ) и одному кроссоверу только с одним геном. **Б.** Формиро-

вание тандемно-полиаллельной последовательности становится возможным, если первичная дупликация гомозиготна. В этом случае возможно образование участка хромосомы с тремя аллелями [748].

повторного неравного кроссинговера между  $HP^2$ -аллелями, что должно привести к появлению, с одной стороны, аллеля, подобного  $HP^1$ , а с другой – аллеля, содержащего почти утроенную генетическую информацию. Последующие кроссинговеры между такими аллелями могут привести к образованию еще более протяженных генов и, следовательно, к полиморфизму в популяции по длине аллелей.

Имеется существенное различие между первым уникальным событием, в результате которого образуется ген почти вдвое длиннее обычного (например,  $HP^2$ ) из единичного гена  $HP^1$ , и неравным, но гомологичным кроссинговером, который становится возможным, как только в популяции появится дуплицированный аллель [748].

*Первое событие.* Пусть имеется пара гомологичных хромосом, причем оба партнера

содержат протяженные идентичные нуклеотидные последовательности. В норме эти партнеры спариваются в мейозе, и неравный кроссинговер не может произойти. Чтобы вызвать ошибочное спаривание и тем самым неравный кроссинговер, необходима исходная дупликация по крайней мере одного гена. В цитогенетике известны механизмы такой дупликации, простейший из которых – два разрыва в немного смещенных (один относительно другого) сайтах в конъюгирующих гомологичных хроматидах во время мейоза и последующее перекрестное воссоединение. Другой механизм – это ошибочное спаривание вследствие гомологии коротких нуклеотидных последовательностей в негомологичных положениях. По современным представлениям структура последовательностей ДНК между транскрибируемыми участками генов (разд. 2.3) допускает много разных возмож-

ностей для такого ошибочного спаривания.

Если сайты разрыва отстоят только на длину одного структурного гена, то результатом этого события будут четыре гаметы: две, вовсе не содержащие данный ген, и две другие, содержащие его в дуплицированном виде (рис. 3.44). Гаметы, содержащие делцию, с высокой вероятностью могут утратиться вследствие гибели эмбриона. С другой стороны, гамета с дупликацией приведет к появлению диплоидного индивида, у которого в мейозе возможно ошибочное спаривание гомологичных цистронов и, следовательно, неравный кроссинговер.

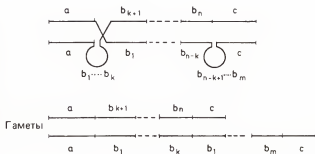
**Последствия неравного кроссинговера.** Последствия показаны на рис. 3.44. Пока дупликация остается гетерозиготной, все гаметы будут содержать либо одну, либо две копии дуплицированного гена. Однако, когда дупликация становится гомозиготной, возникают другие типы гамет. В результате неравного кроссинговера могут образоваться, с одной стороны, гаметы с единственной копией, а с другой — гаметы, содержащие три, а в последующих поколениях и большее число копий данного гена (рис. 3.44, 3.45). Если вероятность неравного кроссинговера не слишком мала, то довольно быстро создается высокая изменчивость по числу гомологичных хромосомных сегментов, которые, оставаясь сходными по первичной структуре, различаются по положению. Если отбор благоприятствует определенному числу таких хромосомных сегментов, то вскоре это число станет наиболее распространенным. Затухание отбора приведет к увеличению из-

менчивости в обоих направлениях. Постепенно увеличится доля индивидов как с очень высоким, так и с небольшим числом таких генов [748]. Другой генетический механизм, сходный в некоторых аспектах с неравным кроссинговером, — это геновая конверсия, в результате которой образуются нерсципрокные продукты (разд. 2.3, рис. 2.97).

**Возможное значение в генетике человека.** Как уже упоминалось, гаптоглобиновый аллель  $HP^2$  представляет собой почти полностью дуплицированный  $HP^1$ -аллель. В этом случае неравный кроссинговер, как ожидается, приводит иногда к появлению аллелей, содержащих утроенную информацию. Такие аллели на самом деле иногда наблюдались. Они известны как аллели типа Джонсона [883].

Другим примером могут служить тесно сцепленные глобиновые  $\beta$ - и  $\delta$ -цистры (разд. 4.3). В этом случае неравный кроссинговер может породить мутанты типа Лепоре (рис. 4.51), а также X-сцепленные гены цветоощущения [825a]. Кроме того, имеется много примеров умеренно и высокоповторяющихся последовательностей ДНК, внутри которых возможен неравный кроссинговер. Гены рибосомных РНК, локализованные внутри районов ядрышкового организатора, имеют около 300–400 идентичных копий с заметной вариацией. На первый взгляд такая ситуация обеспечивает наилучшие условия для неравного кроссинговера. Однако эти гены локализованы близко к центромере акроцентрических хромосом, где кроссинговер вряд ли происходит.

**Рис. 3.45.** Последствия неравного кроссинговера. В последовательных поколениях могут формироваться хромосомы с неограниченным (теоретически) числом tandemно расположенных аллелей. Неравный кроссинговер между любыми из них может привести к еще более длинным (или более коротким) гаплотипам.  $b_1 \dots b_k \dots b_n$  относятся к гомологичным генам.



Остаются нерешенными вопросы, может ли вообще происходить кроссинговер в дистальных районах акроцентрических хромосом и не является ли акроцентрическая локализация защитным механизмом против отклонения от оптимального количества рРНК-генов за счет неравного кроссинговера? Гены, кодирующие иммуноглобулины (разд. 4.4), также являются повторяющимися последовательностями ДНК. Чем больше мы узнаем о функциональном значении повторяющихся последовательностей ДНК, тем лучше будем понимать роль неравного кроссинговера.

*Внутрихромосомный неравный кроссинговер.* У структурно-гомологичных (но не позиционно-гомологичных) генов, таких, как найденные в мультигенных семействах (разд. 2.3.3.8), неравный кроссинговер происходит не только между гомологичными хромосомами, но также между сестринскими хроматидами (внутрихромосомный неравный кроссинговер). Теоретические рассуждения показывают, что этот процесс мог сыграть определенную роль в молекулярной эволюции [1941].

### 3.6. Условия и ограничения генетического анализа у человека: мультифакториальное наследование

#### 3.6.1. Уровни генетического анализа

Теория наследственности, созданная Менделем на основании опытов по скрещиванию гороха (разд. 1.4), претерпела в своем развитии несколько этапов. По современным представлениям ген – это фрагмент двухцепочечной ДНК, несущий определенную генетическую информацию. В первых разделах книги мы рассматривали признаки, на примере которых можно было бы ознакомиться с фундаментальными принципами и четко продемонстрировать взаимодействие генотипа и фенотипа: для «нормальных» признаков – это группы крови, а для «аномальных» – редкие наследственные заболевания.

Существует, однако, много таких нормальных признаков, генетическая изменчивость которых очевидна, но ее трудно объяс-

нить простым типом наследования. К этим признакам относят, например, рост и пропорции тела, черты и выражение лица («этот ребенок – вылитый отец»), цвет кожи, кровяное давление и другие. Многие заболевания могут вызываться целым комплексом разных причин, но подверженность патологии может быть различной для разных индивидов и детерминироваться генетически. На ранних этапах развития генетики эти эмпирические данные часто наивно пытались согласовать с менделевскими правилами, не заботясь о том, соблюдены ли формальные требования, связанные с простыми типами наследования. Теперь существует другая тенденция описывать изменчивость таких признаков на основе слишком упрощающих биометрических моделей. Полученные при этом выводы настолько сильно зависят от исходных предположений, что их биологическое значение остается часто сомнительным. Вот почему мы считаем полезным изложить логические основы обсуждения генетических гипотез и очертить несколько уровней, где генетический анализ в настоящее время возможен.

#### 3.6.1.1. Генный уровень

Конечная цель генетического анализа – выявить различия на уровне ДНК, т.е. идентифицировать мутантный сайт. Последовательность нуклеотидов в ДНК содержит информацию для последовательности аминокислот в полипептидной цепи. Вот почему, если прямой анализ на уровне ДНК невозможен, определяют различия на уровне аминокислотной последовательности белков, а по ней уже судят о перестройке на уровне ДНК. Впервые это было осуществлено для гемоглобинов (разд. 4.3). Впоследствии такой анализ позволил сделать вывод о перестройках в ДНК, кодирующих другие белки. Оказалось, что у большинства мутантных белков в определенном положении одна аминокислота замещена на другую в результате замены нуклеотида в соответствующем кодоне. Обнаружены и другие перестройки: делеции, сдвиг рамки считывания и нонсенс-мутации (разд. 4.3, 5.1). В этом случае генетический вариант

белка является непосредственным результатом специфического изменения на уровне ДНК – «носителя генетической информации».

Разработанные в последние годы методы позволяют иногда прямо продемонстрировать мутационную перестройку на уровне ДНК (разд. 4.3.5). Все расширяющиеся возможности таких методов позволяют открывать новые типы мутаций, в частности вызывающие нарушения регуляции транскрипции, а также ошибочный сплайсинг первичных транскриптов. Большинство исследований этого типа было выполнено с системой  $\beta$ -глобина человека, мутационные изменения которого проявляются фенотипически в виде группы заболеваний, называемых  $\beta$ -талассемиями. Последние возникают вследствие или отсутствия ( $\beta^0$ ), или недостаточности продукции  $\beta$ -цепи ( $\beta^+$ ). По мере того как количество ДНК-зондов для разных генов человека растет, все большее число мутаций становятся доступными для анализа на уровне ДНК. Мы уже знаем, что различные мутации, аналогичные найденным при гемоглобинопатиях, обнаружены при гемофилии и семейной гиперхолестеринемии. Можно ожидать, что в будущем природу мутационных изменений у человека будут изучать именно на уровне ДНК, а не на уровне генных продуктов.

### 3.6.1.2. Анализ продукта гена: биохимический уровень

В этом случае идентифицировать мутантный сайт внутри гена невозможно, можно только идентифицировать ген, в котором произошла мутация. Для этого существует несколько способов.

1. Специфические белки можно охарактеризовать биохимически. Обнаруженные различия отражают генетическую изменчивость. Если белок состоит из нескольких полипептидных цепей, можно идентифицировать мутантный полипептид.

2. Многие белки выполняют функции ферментов, катализирующих специфические метаболические реакции. Следовательно, если продемонстрирован конкретный генетический блок, определен дефект фер-

мента и исключены все другие биохимические объяснения, можно сделать вывод о мутации в конкретном гене, кодирующем данный фермент. Следующий шаг будет состоять в детальном изучении фермента.

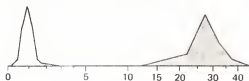
3. Идентифицировать мутантный ген можно и на основании анализа антигенного профиля клеточной поверхности. Примерами служат группы крови и система HLA (разд. 3.5.5). В этих случаях удается выявить не только конкретные гены, но иногда также и структурные различия внутри отдельных генов.

Результаты анализа на биохимическом уровне у человека сопоставимы с результатами, полученными в экспериментальной генетике таких видов, как *Drosophila melanogaster*, мышь, кукуруза, шелковичный червь и другие. У этих видов во многих случаях мутации идентифицировали не на основе изменений специфических белков, ферментативных дефектов или aberrантных антигенов, а благодаря опытам по скрещиванию и рекомбинационному анализу, что в совокупности обеспечивает эффективный альтернативный подход к идентификации индивидуальных генов.

Интересно проследить, как чисто формальная концепция гена, долгое время господствовавшая в умах экспериментальных генетиков, влияла на развитие этой фундаментальной науки. Отметим, что на ранних этапах биохимическая генетика человека развивалась более успешно, нежели на других видах. Сочетание биохимического и генетического подходов к генетике бактерий и грибов привело к значительным успехам. Однако в сравнении с другими видами млекопитающих биохимическая генетика человека продолжает оставаться впереди. С появлением новых молекулярных методов генетический анализ у человека значительно упрощается.

### 3.6.1.3. Качественный фенотипический анализ: простые типы наследования

В данном случае выводы основаны на анализе фенотипических различий, отдаленных от первичного действия генов. Тем не менее иногда соответствует генотипа и фенотипа



**Рис. 3.46.** Уровень фенилаланина в плазме крови здоровых людей и больных фенилкетонурией (окрашено), выраженный в мг%. (По Penrose, 1951.)

столь однозначно, что напрашивается вывод о простом менделевском наследовании. Однако мы не можем с уверенностью утверждать, что этот ген единственный, поскольку один и тот же фенотип даже с одинаковым типом наследования может быть обусловлен мутациями в нескольких разных локусах.

*Редко встречающиеся качественные отклонения от нормы.* Эта категория охватывает большинство наследственных заболеваний. Например, индивид либо имеет нормальную пигментацию, либо утратил кожный пигмент (альбинизм). Если выражение признака можно оценить количественно, например измерить уровень метаболитов крови или мочи, то распределение фенотипических значений имеет две моды. Результаты подобного рода позволяют заподозрить наличие ферментативного дефекта и, возможно, даже идентифицировать соответствующий ген. Примерами могут служить повышенное выделение гомогентизиновой кислоты в моче больных алкаптонурией (врожденная ошибка метаболизма по Гэрроду) или повышенное содержание фенилаланина в сыворотке крови больных фенилкетонурией (рис. 3.46). Эти признаки редкие, и когда их подвергают детальному анализу, клинически сходные заболевания с одинаковым типом наследования часто оказываются генетически гетерогенными. Каковы критерии гетерогенности?

1. Если ребенок двух гомозигот с рецессивным признаком имеет нормальный фенотип, это означает, что его родители гомозиготны по разным рецессивным генам.

2. При анализе родословных в одних семьях обнаруживается тесное сцепление заболевания с геном-маркером, тогда как в других семьях эти гены сегрегируют независимо. Примером может служить сцепление одного из локусов доминантного эллиптоцитоза с геном Rh в хромосоме 1.

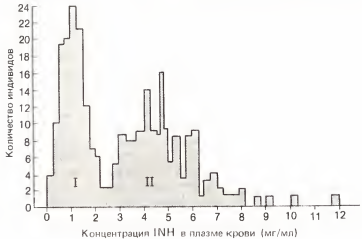
3. В ряде клинически сходных случаев биохимический анализ выявляет дефекты различных белков (или ферментов). Оказалось, что признаки, которые сначала считались однородными, имеют разную генетическую основу (примеры: гемофилия А и В, болезни накопления гликогена, наследственные гемолитические анемии.)

*Широко распространенные признаки: бимодальное распределение.* Для этой группы признаков характерно отсутствие четкого распределения фенотипов по двум классам: не каждого индивида можно с уверенностью отнести к какому-то определенному классу, поскольку возможны перекрытия. Но если область перекрытия фенотипических значений относительно небольшая, то общее распределение остается все же бимодальным.

Это явление можно проиллюстрировать примером из фармакогенетики. После приема одинаковой дозы противотуберкулезного препарата – гидразид азониновой кислоты (INH) его концентрация в плазме разных индивидов оказывается различной, а общее распределение имеет две моды (рис. 3.47). Можно предположить, что механизм биотрансформации лекарства детерминирован одним геном. Эта гипотеза была подтверждена в семейных исследованиях: у гомозигот  $Ac^s/Ac^s$  ( $Ac^s$  – аллель медленной инактивации) обнаружился высокий уровень лекарства в крови, тогда как у гетерозигот  $Ac^s/Ac^f$  ( $Ac^f$  – аллель быстрой инактивации) и у гомозигот  $Ac^f/Ac^f$  выявлялся низкий уровень лекарства. Был сделан вывод о том, что эти фенотипические различия в биотрансформации обусловлены наследуемыми вариантами фермента N-ацетилтрансферазы. Таким образом, подтверждение генетической гипотезы было получено благодаря открытию бимодального распределения концентраций лекарств в крови.



**Рис. 3.47.** Концентрация изоинзида (ИНН) в плазме крови 267 членов 53 семей. Антимода полученного бимодального распределения соответствует области между 2 и 3 мг% [196].



Если исследуемый признак допускает измерение и обнаруживает бимодальное распределение, это еще не может служить доказательством простого типа наследования. Нужны более убедительные факты, поскольку возможны и другие причины бимодальности.

1. Бимодальное (или мультимодальное) распределение особенно вероятно при наличии так называемого порогового эффекта (разд. 3.6.2). Кроме того, даже в отсутствие порогового эффекта бимодальное распределение может возникать вторично, если признак обнаруживает тенденцию к «самоусилению» при достижении определенной степени выражения. Одним из примеров может служить кровяное давление: при определенном повышении его уровня почки могут уже не справляться со своими функциями, что влечет за собой более резкое повышение кровяного давления. Бимодальность может имитироваться также особенностями регистрации семейного материала.

2. Средние значения двух распределений могут быть столь близкими друг к другу, что бимодальность окажется незаметной. Харрис и Смит [703] исследовали условия, при которых комбинация двух нормальных распределений может привести к бимодальному распределению:

а) два нормальных распределения с одина-

ковыми дисперсиями дают в совокупности бимодальное распределение, только если разность средних значений по крайней мере в два раза больше общего стандартного отклонения;

б) в случае различных дисперсий, если разность между средними значениями выражать в единицах меньшего стандартного отклонения, то коэффициент должен изменяться от 2 (когда дисперсии равны) до 2,6 (когда дисперсии сильно различаются);

в) если средние значения настолько близки между собой, что бимодальность общего распределения не выявляется, а численности индивидов в двух распределениях различаются немного, то на наличие двух разных распределений может указывать так называемая «битангенциальность» общего распределения (рис. 3.48).

На практике трудно убедиться в наличии именно такого распределения. Встречающиеся в природе переменные редко имеют идеальное нормальное распределение, и поэтому следует помнить о случайных выборочных отклонениях. Убедиться в том, что случайные отклонения иногда искажают распределение эмпирически наблюдаемых значений при умеренном объеме выборки, можно при сравнении рис. 3.48 с рис. 3.47.

*Вывод. Унимодальное распределение может свидетельствовать о моногенном наследовании, однако в отсутствие дополнительных данных отличить моногенную модель от мультифакториальной невозможно.*

На рис. 3.49 представлен противоположный пример: распределения ферментативной активности разных электрофоретически идентифицируемых генетических вариантов GPT (глутамат-пируват-трансаминазы) четко различаются. При этом общее распределение в популяции является почти нормальным, что принято интерпретировать как отражение мультифакториальной природы признака. Тем не менее в данном случае общее распределение в популяции детерминировано лишь двумя аллелями (*GPT1*, *GPT2*) и соответственно тремя фенотипами (*GPT1*, *GPT2-1*, *GPT2*). Много случаев такого рода было обнаружено при анализе изменчивости ферментативной активности в различных системах генетически полиморфных ферментов (разд. 6.1).

Распознавание бимодальности может быть существенно затруднено, если два класса имеют очень разные частоты, на-

пример если численность индивидов одного класса составляет менее 10% от численности другого (рис. 3.50). В этой ситуации возникает сомнение, является ли меньшая мода истинной, отражающей наличие генетически особой группы. И в таких случаях также возможны:

а) случайные отклонения;

б) пороговый эффект: к этой возможности следует относиться серьезно, особенно если фенотипические значения, образующие вторую моду, близки к нулевым.

Влияние случайных отклонений можно избежать, если исследовать большее количество индивидов, но при этом не исключается, конечно, пороговый эффект. Необходимы семейные исследования, особенно в случаях аутосомно-рецессивного или сцепленного с полом наследования. В таких семьях следует ожидать наличия двух генотипов примерно с равными частотами, и поэтому бимодальность будет выражена более четко, чем в популяционной выборке. При исследовании семей пробандов, фенотипы которых соответствуют меньшей моде, в пользу простого типа наследования свидетельствуют следующие факты (если они типичны для большинства семей):

а) четко выраженное бимодальное распределение признака в sibствах, причем значения фенотипических признаков у sibсов, соответствующие моде «нормы», имеют распределение такое же, как и в общей популяции;

б) значения у родителей также образуют бимодальное распределение с тем дополнительным условием, что по крайней мере один из родителей должен попасть в группу второй моды, отличной от «нормы»;

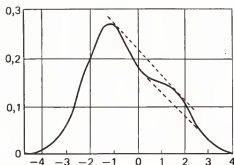


Рис. 3.48. Битангенциальное распределение. (Harris, Smith, 1951 [703].)

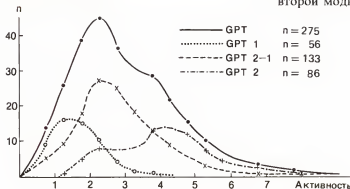


Рис. 3.49. Распределения ферментативной активности для трех генотипов GPT и их суммарное распределение, очень сходное со скошенным нормальным [8].

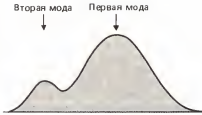


Рис. 3.50. Бимодальное распределение количественного признака в популяции человека. Один из двух типов распространен намного чаще, чем другой.

в) в этих sibствах соотношение пораженных и непораженных должно быть примерно 1:1. Если оба родителя попадают во вторую моду, т.е. оба гетерозиготны, то соотношение пораженных и непораженных sibсов должно быть примерно 3:1.

При мультифакториальном наследовании ложная бимодальность может оказаться следствием порога в области нулевых значений. В результате распределение тех sibсов, фенотипические значения признака которых, можно отнести к первой моде, будет обнаруживать меньшее среднее значение, чем в популяции. Кроме того, значения признака у родителей чаще будут относиться к первой моде с более низким средним значением, чем в популяции (рис. 3.51).

Признак, для которого вывод об аутосомно-доминантном наследовании был сделан на основе указанных критериев, — это низкая амплитуда электроэнцефалограммы (ЭЭГ) [92]. Человеческий мозг постоянно порождает электрические колебания, которые после прохождения через соответствующие усилители можно записать в

виде кривых на бумаге. Для этого к голове в определенных точках прикладывается несколько (8–16) электродов. Испытуемый расслабляется и отдыхает, но не спит (типы ЭЭГ сна различны и сами по себе часто используются в специальных диагностических целях). В ЭЭГ отдыхающего здорового взрослого человека обнаруживается несколько разных типов волн, среди которых наиболее примечательны  $\alpha$ -волны, характеризующиеся умеренной частотой колебаний. Кроме этого могут присутствовать быстрые  $\beta$ -волны (с частотой более 13 колебаний в секунду) и несколько видов медленных  $\theta$ -волн (4–8 колебаний в с) (рис. 3.52). Комбинации различных элементов кривой ЭЭГ многообразны, их можно сравнивать между собой. Почти каждый человек имеет свою собственную, характерную только для него ЭЭГ, которая остается постоянной многие годы в отсутствие таких заболева-



Рис. 3.51. Бимодальное распределение в случае, когда вторая мода близка к нулю. Различие между простым диаллельным наследованием и мультифакториальной моделью. Отметим, что при мультифакториальном наследовании первая мода сдвинута влево, тогда как при диаллельном наследовании первая мода совпадает с популяционной модой и модой в тех семьях, в которых происходит расщепление на два типа.

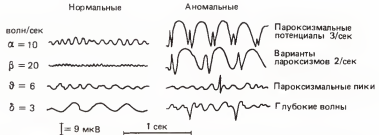


Рис. 3.52. Типы колебаний (волн) электроэнцефалограммы человека.

ний, как эпилепсия или опухоль мозга, а также исключая такие кратковременные физиологические состояния, как сильное утомление или тяжелая интоксикация. В детстве и юности ЭЭГ развивается из нерегулярных форм с относительно медленными волнами, завершает свое развитие примерно к 19 годам, а затем меняется очень мало. Индивидуальные различия в скорости развития огромны, что объясняет высокую изменчивость ЭЭГ в детском возрасте. Близнецовые исследования показали, что в норме индивидуальные различия ЭЭГ детерминированы почти исключительно генетически.

Примерно у 4% взрослых индивидов из общей популяции обнаружены ЭЭГ со следующими характеристиками:

а)  $\alpha$ -волны затылочной области полностью отсутствуют или выявляются только короткое время с очень низкой амплитудой;

б) ЭЭГ может выглядеть абсолютно плоской или обнаруживать нерегулярную картину с  $\beta$ -или  $\theta$ -волнами низкой амплитуды;

в) в противоположность ЭЭГ с нормальным  $\alpha$ -ритмом отсутствует реакция на открывание глаз. После закрывания глаз могут появиться, но не обязательно, отдельные  $\alpha$ -волны.

Первым требованием генетического анализа является, конечно, возможность количественно оценить  $\alpha$ -ритм в затылочной области. Одной из мер может служить так называемый  $\alpha$ -индекс, определяемый следующим образом:

$$\frac{\text{число отдельных } \alpha\text{-волн}/10 \text{ с}}{\alpha\text{-частота} \cdot 10 \text{ с}}$$

На рис. 3.53 показано распределение этого индекса в 30 sibствах, зарегистрированных по пробандам с низкой амплитудой ЭЭГ. Это распределение имеет два максимума, один около 70–80, а другой около 0. Второй максимум соответствует низкой амплитуде. На первый взгляд это распределение свидетельствует в пользу моногенной гипотезы, однако второй максимум близок к нулевому значению и, следовательно, бимодальность распределения может оказаться следствием порога, расположенного в нулевой точке, т. е. фиктивной.

Имеются ли дополнительные аргументы в пользу моногенного наследования? Распределение среди родителей является бимодальным, а распределение вокруг первой моды хорошо согласуется с распределением в общей популяции. Еще важнее то, что во всех семьях, зарегистрированных по пробанду, по крайней мере один родитель имел низкую амплитуду ЭЭГ (рис. 3.54). Сегрегационный анализ данных по всем семьям с двумя пораженными родителями дал оценку вероятности расщепления, близкую к

75%, но по всем семьям с одним пораженным родителем оценка этой вероятности была значительно ниже ожидаемого значения, равного 50%. Оказалось, что такой результат – следствие включения в выборку подростков в возрасте от 10 до 19 лет: низкая амплитуда ЭЭГ как раз только формируется в течение этого периода. Ограничение анализа только лицами 19 лет и старше приводит к превосходному соответствию ожидаемых и наблюдаемых сегрегационных отношений (табл. 3.12). (Ожидаемые значения иногда выше, чем 0,5 или 0,75 соответственно, поскольку вследствие высокой частоты признака среди родителей ожидается некоторая доля гомозигот.) В описанном случае анализ распределений количественного признака ( $\alpha$ -индекс) в семьях позволил сделать вывод об аутосомно-доминантном типе наследования.

В принципе сходные критерии можно использовать при изучении X-сцепленного рецессивного наследования. Однако в этом случае анализ распределений может оказаться труднее для женской части популяции, поскольку ожидается тримодальное распределение: две гомозиготы и одна гетерозигота. Примером может служить активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G6PD): так как существуют большие перекрытия между «нормой» и гетерозиготами, а также между гетерозиготами и гомозиготами по недостаточности G6PD, в женской части популяции трудно идентифицировать тримодальность.

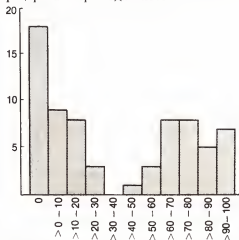
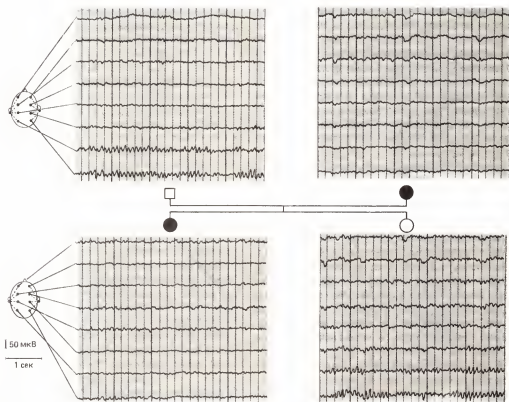


Рис. 3.53. Распределение  $\alpha$ -индекса в 30 sibствах из семей пробандов с низкоамплитудными ЭЭГ (см. текст).

**Таблица 3.12.** Низкоамплитудная ЭЭГ (+): сегрегационный анализ 60 семей со 117 детьми

Типы брака	+ × -	Все дети + × -	Только дети старше 19 лет + × -
Ожидаемое (+)	$P = 0,759$	$P = 0,509$	$P = 0,509$
Наблюдаемое (+)	$\hat{P} = 0,75 \pm 0,153$	$\hat{P} = 0,364 \pm 0,052$	$\hat{P} = 0,447 \pm 0,075$

$P$  – ожидаемое;  $\hat{P}$  – оцененное сегрегационное отношение. Ожидаемые значения были вычислены в предположении, что подавляющее большинство родителей с низкоамплитудной ЭЭГ (+) были гетерозиготами (ожидаемые значения для детей в скрещиваниях + × +: 0,75; + × -:  $P = 0,05$ ), а родители, для которых вычисления проводились в предположении равновесия Харди-Вайнберга, были гомозиготами.



**Рис. 3.54.** Семейное обследование. У матери и первой дочери низкоамплитудные ЭЭГ, у отца и второй дочери стандартная ЭЭГ с  $\alpha$ -ритмом. Униполярные отведения.

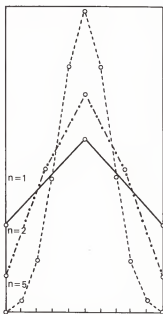
### 3.6.1.4. Генетический анализ на уровне количественного фенотипа — биометрический уровень

**Аддитивная модель.** Во многих случаях фенотипическая изменчивость настолько сложна, что эффекты отдельных мутаций уже нельзя идентифицировать и приходится мириться с генетическими выводами (основанными на анализе сходства между родственниками), представленными в очень общем виде. Тем не менее применяемые в этих случаях «мультифакториальные» модели имеют вполне определенные характеристики, и что важнее, формулируемые на их основе прогнозы оказываются справедливыми при тестировании на реальном материале.

В простейшей из возможных моделей предполагается совместное действие нескольких генов. Предположим, что аллель, обозначаемый заглавной буквой (А или В, но не а или b), вносит свой вклад в величину признака («положительный» аллель), тогда как аллель, обозначаемый маленькой буквой (а или b, но не А или В), действует как «нулевой», т. е. не оказывает никакого эффекта на величину признака («отрицательный» аллель). Тогда фенотипическое проявление признака будет находиться в градуальной зависимости только от относительного количества положительных (или отрицательных) аллелей, вклады которых предполагаются в этой модели равными и аддитивными. Таким образом, генотипы AABVccdd..., AaBbCcDd или aabbCCDD... фенотипически не различаются (аддитивная полигения). Эту модель мы используем в дальнейшем для разъяснения ряда концепций. Необходимо пояснить, что эта модель представляет собой абстракцию и является очень упрощенной. На самом деле вклады генов, действующих в мультифакториальной системе, почти всегда будут различаться как в количественном, так и в качественном отношении. Какие-то гены окажутся более важными.

Давайте далее предположим, что рассматриваемые  $n$  диаллельных генов распространены в популяции с частотами  $p$  (для положительных аллелей) =  $q$  (для отрицательных аллелей) = 0,5. Тогда распре-

деление фенотипических классов на произвольной количественной шкале задается биномиальной формулой  $(p + q)^{2n}$  (рис. 3.55). Чем больше число генов, тем больше индивидов находится в центральной (т. е. ближе к средним значениям) области распределения. На первый взгляд эта зависимость может дать критерий оценки количества генов, детерминирующих признак (для чего следует сравнить эмпирическое распределение с некоторым набором теоретических). Однако такое предположение будет справедливым лишь в том случае, если каждый ген вносит в величину признака на периферии распределения точно такой же вклад, как и в центре. Это предположение можно опровергнуть на основе общей и часто биологически приемлемой гипотезы, согласно которой на периферии распределения дальнейшие отклонения в том же направлении достигаются труднее. Например, в случае биологически активных ве-



**Рис. 3.55.** Распределение генотипов в соответствии с биномиальным распределением  $(p + q)^{2n}$  при  $p = q = 0.5$  для 1, 2, 5 пар генов ( $n = 1, 2, 5$ ). Ось абсцисс соответствует значениям измеряемого признака.

ществ и ферментов отрицательные значения активности не существуют.

Подобные рассуждения использовали для определения числа генов, детерминирующих пигментацию кожи. По нашему мнению, весьма вероятно, что число таких генов не очень велико, поскольку среди детей в браках между мулатами (т. е. множественными гетерозиготами) нередко наблюдается выщепление как чисто «белых», так и чисто «черных» индивидов.

Все распределения на рис. 3.55 имеют только одну моду (т. е. они унимодальны). Кроме того, они сходны с «нормальным» распределением. Это сходство увеличивается с возрастанием числа рассматриваемых генов ( $n$ ), т. е. при возрастании  $n$  нормальное распределение является предельным случаем биномиального. Можно показать, что эта аппроксимация становится удовлетворительной как раз тогда, когда частоты положительных и отрицательных аллелей не равны. Чем ближе к симметрии, тем большие значения  $n$  требуются для достижения той же степени аппроксимации. Вообще, унимодальное распределение, которое более или менее точно аппроксимируется нормальным, является типичным для генетической модели аддитивной полигенции. Однако ни унимодальность распределения, ни его форма не зависят от конкретных свойств этой модели (равных и аддитивных вкладов генов) и потому могут служить индикаторами мультифакториального наследования в более общем смысле.

С другой стороны, как показано в разд. 3.6.1.3, эти свойства не исключают наличия эффекта «главного гена» с простым типом наследования, который действует на фоне аддитивно-полигенной системы. Биологически вполне правдоподобно, что лишь несколько главных генов могут быть основными генетическими факторами ряда заболеваний, проявляющими свои эффекты на фоне многих генов, менее значимых для патогенеза этих заболеваний.

Самое первое условие установления унимодальности распределения, как и его близости к нормальному, — возможность измерить признак на какой-либо количественной шкале. Например, всех взрослых мужчин можно разбить по росту на два аль-

тернативных класса: на тех, которые выше 167 см, и на тех, которые ниже 167 см. При такой ограниченной информации нетрудно показать на основе семейных данных, что изменчивость роста человека зависит от доминантного гена с неполной пенетрантностью. Этот пример тривиален, и аргументация очевидна, однако литература все еще полна примеров такого типа ошибок.

Генетическая гипотеза не может основываться исключительно на популяционном распределении признака. Необходимы также семейные данные. Какого типа семейные данные предсказывает модель? Мы рассмотрим этот вопрос в простейшем случае двух генов с двумя аллелями каждый (A, a и B, b), действующими аддитивно и одинаково. Пусть частоты аллелей равны  $p_1$ ,  $p_2$  и  $q_1$ ,  $q_2$  соответственно. Тогда мы будем иметь девять разных генотипов и пять разных фенотипов. Их частоты приведены в табл. 3.13. Можно вычислить частоты возможных типов браков и распределение генотипов детей для каждого типа брака родителей. Для частного случая, когда частоты всех аллелей равны 0,5 (последний столбец в табл. 3.13), вычисления приведены в табл. 3.14. Из этих распределений генотипов можно получить со-

**Таблица 3.13.** Генотипы и фенотипы при аддитивном полигенном наследовании

Фено-тип	Генотип	Частота	$p_1 = p_2 = q_1 = q_2 = 0,5$
+4	AABB	$p_1^2 p_2^2$	0,0625
+2	AABb	$p_1^2 2p_2 q_2$	0,125
	AaBB	$2p_1 q_1 p_2^2$	0,125
	AAbb	$p_1^2 q_2^2$	0,0625
0	aaBB	$q_1^2 p_2^2$	0,0625
	AaBb	$2p_1 q_1 2p_2 q_2$	0,25
	Aabb	$2p_1 q_1 q_2^2$	0,125
-2	aaBb	$q_1^2 2p_2 q_2$	0,125
-4	aabb	$q_1^2 q_2^2$	0,0625
			1,000





**Таблица 3.15.** Распределение детей при аддитивном полигенном наследовании (не приведены пять классов  $0 \times -2$ ,  $0 \times -4$ ,  $-2 \times -2$ ,  $-2 \times -4$ ,  $-4 \times -4$ , расчеты для которых могут быть проведены по тому же правилу)

Генотипы родителей	+4 AABB	+2 AABb; AaBB	0 AAbb; aaBB; AaBb	-2 Aabb; aaBb	-4 aabb
+4 × +4	1				
+4 × +2	0,5	0,5			
+4 × 0	0,1666	0,6667	0,1666		
+4 × -2		0,5	0,5		
+4 × -4			1		
+2 × +2	0,25	0,5	0,25		
+2 × 0	0,083333	0,41667	0,41667	0,08333	
+2 × -2		0,25	0,5	0,25	
+2 × -4			0,5	0,5	
0 × 0	0,02778	0,22222	0,50000	0,22222	0,02778

ответствующие фенотипические распределения детей (табл. 3.15).

Изучаемая модель обладает следующими свойствами:

а) все получающиеся распределения имеют примерно одинаковую форму: они симметричны и унимодальны;

б) если родительские фенотипы совпадают, то средняя детей равна родительскому фенотипу. Если родительские фенотипы различны, то средняя детей точно равна среднему родительских значений (значение среднего родителя);

в) с увеличением гетерозиготности родителей ожидаемая дисперсия детей становится больше. Она наибольшая для брака  $0 \times 0$  и равна 0 для браков  $+4 \times 4$ ;  $+4 \times -4$ ;  $-4 \times -4$ ;

д) средняя детей всех лиц с одинаковым генотипом (например, дети всех лиц с фенотипом +4) отклоняется вдвое меньше от популяционной средней, чем фенотип этих родителей (например, для родителей с фенотипом +4 фенотипическая средняя детей равна +2).

Эта модель очень частная и простая. Но даже ее анализ оказывается уже крайне громоздким. Для изучения общего случая ( $n$  генов, частоты аллелей  $p_1, \dots, p_n, q_1, \dots, q_n$ ) метод необходимо видоизменить. Сначала предположим, что пара аллелей гетерозигот Aa имеет фенотипический эффект  $a$ , гомозигот AA —  $2a$ , а гомозигот aa — 0. Таким образом, мы снова предположили, что гетерозиготы занимают промежуточное положение

между гомозиготами. Среднее значение и дисперсию признака  $x$  можно вычислить следующим образом:

$$E_x = \frac{p^2(2a) + 2pq(a)}{p^2 + 2pq + q^2} = \frac{2pa(p + q)}{(p + q)^2} = 2pa, \quad (3.5)$$

$$V_x = E(x^2) - (E_x)^2 = p^2(4a^2) + 2pq(a^2) - 4p^2a^2 = 2pqa^2 \quad (3.6)$$

(здесь  $p + q = 1$ ).  $a$  может рассматриваться как вклад аллеля A в признак  $x$ .  $V_x$  называется генетической изменчивостью в популяции.

В общем случае  $n$  генов с частотами  $p_1 = p_1, p_2, \dots, p_n$  для аллелей  $A_1, A_2, \dots, A_n$  и частотами  $q_1 = q_1, q_2, \dots, q_n$  для аллелей  $a_1, a_2, \dots, a_n$

$$E_x = 2a \sum_{i=1}^n p_i, \quad V_x = 2a^2 \sum_{i=1}^n p_i q_i.$$

Наши рассуждения, которые для простоты ограничены случаем одного гена, справедливы и в общем случае  $n$  генов.

Рассмотрим теперь соотношения между родителями и детьми, а также между сибсами. Для

**Таблица 3.16.** Частоты пар родитель–ребенок (комбинации отец–ребенок или мать–ребенок) в популяции человека при случайном скрещивании (см. текст)

Родитель	Ребенок		
	AA	Aa	aa
AA	$p^3$	$p^2q$	$p^2$
Aa	$p^2q$	$pq^2$	$2pq$
aa	—	$pq^2$	$q^3$

упрощения вычислений предположим, что  $a$  равна 1, тогда фенотипическое значение гомозигот  $AA = 2$ , гетерозигот  $Aa = 1$  и гомозигот  $aa = 0$ . В табл. 3.16 показаны частоты всех возможных комбинаций мать—ребенок. Их можно объяснить следующим образом. Частота матерей  $AA$  среди всех матерей равна  $p^2$ . Каждый из их детей получает один аллель  $A$ . Вероятность, что этот аллель встретит в зиготе другой аллель  $A$ , равна  $p$ . Это дает общую частоту  $p^2 \cdot p = p^3$ . Для других материнских генотипов можно провести аналогичные расчеты. Общее распределение для всей популяции (родителей и детей) будет, конечно,  $p^2 + 2pq + q^2$  (маргинальные суммы в табл. 3.16).

Обозначим теперь изучаемый признак у родителей  $x_1$ , а у детей  $x_2$ . Тогда полученные выше уравнения (3.5) и (3.6) дадут

$$\bar{x}_1 = \bar{x}_2 = 2p; \quad (3.7)$$

$$V_{x1} = V_{x2} = 2pq. \quad (3.8)$$

Ковариацию между родителями и детьми можно получить из табл. 3.17. В общем случае ковариация двух переменных  $x_1$  и  $x_2$  определяется так:

$$\text{Cov}(x_1, x_2) = E(x_1 x_2) - \bar{x}_1 \bar{x}_2.$$

Здесь  $E(x_1 x_2)$  определяется как  $\sum x_{1i} x_{2i} p(x_{1i}, x_{2i})$ .

Значения  $x_{1i}$  и  $x_{2i}$  представляют собой фенотипическое выражение признака, т.е. в нашем примере, 2, 1, 0.  $p(x_{1i}, x_{2i})$  — соответствующие записи в табл. 3.16, например,  $p(2,2)$  имеет значение  $q^3$ . Отсюда следует

$$\text{Cov}(x_1, x_2) = 4p^3 + 4p^2q + pq - (2p)^2 = pq$$

и коэффициент корреляции между родителем и ребенком

$$r_{pc} = \frac{\text{Cov}(x_1 x_2)}{\sigma_{x1} \sigma_{x2}} = \frac{pq}{2pq} = 0,5$$

Этот важный результат был получен Фишером (1918) [664]. В случайном скрещивающейся популяции и при аддитивном действии генов коэффициент корреляции между родителем и ребенком составляет 0,5. Точно таким же способом можно показать, что коэффициент корреляции между полными сибсами тоже равен 0,5. Коэффициенты корреляции не зависят от частот аллелей  $p_1$  и  $q_1$ . Такой результат означает, что родители и дети, а также сибсы имеют 50% общих генов.

Положение становится намного сложнее, если  $A$  доминирует над  $a$ . В этом случае коэффициент корреляции зависит от частот аллелей. Корреляция родитель—ребенок уже не равна корреляции сибс—сибс, а всегда меньше, за исключением случая  $q = 1$ .

**Таблица 3.17.** Рост родителей и взрослых детей. (По *Johannsen*, 1926 [726].) (Данные приведены в дюймах: 1 дюйм = 2,54 см.)

Рост среднего родителя	Рост детей							
	60,7	62,7	64,7	66,7	68,7	70,7	72,7	74,7
64	2	7	10	14	4	—	—	—
66	1	15	19	56	41	11	1	—
68	1	15	56	130	148	69	11	—
70	1	2	21	48	83	66	22	8
72	—	—	1	7	11	17	20	6
74	—	—	—	—	—	—	4	—
	5	39	107	255	287	163	58	14

### 3.6.1.5. Концепция наследуемости

Концепция наследуемости широко применяется в количественной генетике. Градации изучаемого признака, выраженные в метрических единицах, могут быть названы «значениями». Значение, измеренное у данного индивида, является его фенотипическим значением. Для большинства биологических признаков это фенотипическое значение определяется как генетическими, так и средовыми факторами. Среда рассматривается в широком смысле, т.е. охватывает все негенетические факторы, оказывающие влияние на фенотип (*Falconer* [63] использует термин средовое отклонение):

$$P = G + E,$$

где  $P$  — фенотипическое значение,  $G$  — генотипическое значение и  $E$  — средовое значение.

Фенотипические значения всех индивидов в популяции имеют среднее значение и дисперсию, которая измеряет вариацию вокруг среднего. Дисперсия отличается от других мер изменчивости одним математическим свойством: различные дисперсии можно складывать, получая величину общей дисперсии, и наоборот, общую фенотипическую дисперсию  $V_P$  можно подразделить на компоненты, такие, как генотипическая дисперсия  $V_G$  и средовая  $V_E$ :

$$V_P = V_G + V_E.$$

Однако это правило для дисперсии применимо, только если генотипические и средовые значения независимы друг от друга, т.е. когда они некоррелированы. Если между ними имеется корреляция, то следует добавить ковариацию  $G$  и  $E$ :

$$V_P = V_G + V_E + 2\text{Cov}_{GE}.$$

Давайте возьмем один пример из той области генетики, в которой впервые была введена эта концепция – сельскохозяйственные исследования (Falconer [63]). В молочном животноводстве практика кормления коров соответствует их молочной продуктивности: коровам, от которых получают больше молока, дают больше корма. Человеческое общество часто поступает точно так же в отношении своих членов. Этой темы мы коснемся в разделе, посвященном генетике поведения.

Другое предположение состоит в том, что определенные средовые различия имеют одинаковое влияние на разные генотипы. Когда это не так, то существует взаимодействие между генотипом и средой, которое дает дополнительную компоненту  $V_I$  в общей дисперсии. Даже для экспериментальных животных эта компонента может быть измерена только при особых условиях.

Генотипическая дисперсия  $V_G$  может быть подразделена на несколько компонент: аддитивную компоненту ( $V_A$ ) и компоненту ( $V_D$ ), измеряющую отклонение от ожидаемого значения в аддитивной модели, которое возникает вследствие доминирования и эпистаза. В доминантную дисперсию вносят вклад гетерозиготы ( $Aa$ ), которые не занимают строго промежуточного положения между соответствующими гомозиготами ( $aa$  и  $AA$ ). Вклад в дисперсию, осуществляемый эпистазом, относится к действию тех генов, которые влияют на экспрессию других генов. Следовательно, концепция аддитивной дисперсии не подразумевает допущения чисто аддитивного действия генов. Даже действие генов, обнаруживающих доминирование и эпистаз, проявляет тенденцию иметь аддитивную компоненту. Таким образом, в общей фенотипической дисперсии можно выде-

лить следующие компоненты:

$$V_P = \overbrace{V_A + V_D}^{\text{генетическая дисперсия}} + \overbrace{V_E + V_I}^{\text{средовая дисперсия}} + \text{Cov}_{GE} + \underbrace{V_M}_{\text{дисперсия измерений}}$$

Здесь введена новая компонента ( $V_M$ ), которая относится к варьированию измерений одного и того же признака в разное время. Это могут быть результаты разных опытов в разные дни, или ошибки измерений при тестировании одного и того же образца крови, или различия в повторных обследованиях одного и того же индивида. Если все эти переменные известны, то их тоже можно включить в вычисления. Далее, можно предложить, что ковариация между наследственностью и средой ( $\text{Cov}_{GE}$ ) и дисперсия взаимодействия ( $V_I$ ) равны нулю и их можно опустить. Для простоты мы будем полагать также, что компонентой воспроизводимости ( $V_M$ ) можно пренебречь (мы рассмотрим ее позже в разделе, посвященном близнецовому методу, см. прил. 6).

Для удобства полезно ввести новое понятие – наследуемости, которое определяется так:

$$h^2 = \frac{V_A}{V_P}.$$

Коэффициент наследуемости принимает значения от 0 до 1 (или от 0 до 100%) и выражает вклад аддитивных генетических факторов в изучаемый фенотип. Другими словами, можно сказать, что наследуемость – это популяционный статистический параметр, который выражает (аддитивный) генетический вклад в изучаемый признак в процентах. Низкое значение наследуемости подразумевает малый вклад аддитивно действующих генов в признак, тогда как высокое значение – большой вклад. Эта концепция была развита в связи с селекцией растений и животных, в частности, таких экономически полезных признаков, как молочная продуктивность коров и яйценос-

скость кур. Для этих целей наиболее важной была аддитивная часть генетической изменчивости. Любая другая генетическая компонента, такая, например, как доминирование, снижает точность предсказания значений признака у потомства по значениям признака у родителей. Что касается человека, то мы больше интересуемся общей генетической изменчивостью: является ли она вся аддитивной или нет.

В генетике человека наследуемость, как она была определена выше, часто называют «наследуемостью в узком смысле» и дополняют другим понятием:

$$h^2 = \frac{V_G}{V_P}$$

где  $V_G$  и  $V_P$  относятся к общей генотипической и фенотипической дисперсии соответственно. Это определение известно как «наследуемость в широком смысле» или степень генетической детерминации.

Существует соотношение между наследуемостью в узком смысле ( $h_N^2$ ) и теоретическим коэффициентом корреляции между родственниками, как он определялся и вычислялся выше (3.5).

Для наиболее важных степеней родства принимаются следующие формулы:

монозиготные близнецы	$h^2 = r$
сibs — сibs и дизиготные близнецы	$h^2 = 2r$
один родитель — ребенок	$h^2 = 2r$
средний родитель — ребенок	$h^2 = r/\sqrt{1/2} = r/0,7071$
двоюродные сibs	$h^2 = 8r$
дядя — племянник	$h^2 = 4r$

**Свойства  $h^2$ .** Для интерпретации биологического смысла оценки наследуемости необходимо тщательно рассмотреть ее свойства.

1. Наследуемость — это отношение. Оно изменяется, если изменяется числитель или знаменатель.  $h^2$  увеличивается, когда увеличивается числитель (генотипическая  $V_G$  или аддитивная  $V_A$  дисперсии) или уменьшается средовая дисперсия  $V_E$ .

2. Оценка дисперсии основывается на теоретических корреляциях между род-

ственниками. Эти корреляции справедливы только в предположении случайного скрещивания. Ассортативное скрещивание приводит к другим корреляциям, и если оно не учитывается, то это порождает систематические ошибки в оценке  $h^2$ . Корреляции при ассортативном скрещивании впервые были вычислены Фишером [664], а также Кавалли-Сфорца и Бодмером [36]; более полная модель описана Вильсон [955; 956]. Эти корреляции можно использовать для коррекции оценок  $h^2$ .

3. Оценка  $h^2$  возможна только в том случае, когда делается предположение, что ковариация и взаимодействие между генетическим значением и средовым отклонением равны нулю.

Фалконер попытался избежать этой дилеммы для ковариации, сделав следующее допущение: если проявление генетической конституции индивида модифицируется средовыми условиями, «улучшая» или «ухудшая» его фенотип, то этот вклад можно включить в генотипическое значение как его часть. Формально это правильно, даже если такое допущение усложняет проблему взаимоотношений генотипа и фенотипа. В селекции животных это допущение может быть полезным, но в генетике человека его применение недопустимо.

Еще большие трудности возникают, когда эти концепции применяются для интерпретации значений наследуемости, получаемых на основе близнецовых данных (предложение 6). Компонента в разложении дисперсии, связанная с взаимодействием, приводит к другой трудности в интерпретации, которая до сих пор еще не преодолена.

### 3.6.1.6. Один пример: рост

Примером биометрического анализа, в котором осуществлена оценка наследуемости, является классическая работа Гальтона по наследованию роста (данные из работы Йохансена [726]). Он измерил рост 204 супружеских пар и 928 их взрослых детей. Имелось, однако, одно методологическое осложнение, состоявшее в том, что рост женщин в среднем меньше, чем рост мужчин. Гальтон преодолел эту трудность, умножив все измерения женщин на 1,08, приведя их, таким образом, в соответствие с измерениями мужчин:

Таблица 3.18. (Johannsen, 1926 [726])

Рост среднего родителя (в дюймах)	64,5	65,5	66,5	67,5	68,5	69,5	70,5	71,5	72,5
Средний рост детей (в дюймах)	65,8	66,7	67,2	67,6	68,3	68,9	69,5	69,9	72,2

средний рост мужчин в его выборке был в 1,08 раз больше, чем средний рост женщин. Проведя такую коррекцию, он определил для каждой супружеской пары значение среднего родителя:  $\frac{1}{2}(\text{♂} + \text{♀})$ . Результат исследования виден в корреляции данных из табл. 3.17. Корреляция очевидна уже на первый взгляд, и ее величина оказалась достаточно высокой:  $r_{rc} = 0,59$   $p < 0,01$ , где  $r_{rc}$  обозначает корреляцию «средний родитель—ребенок».

Это значение можно использовать для вычисления  $h^2$ . Наследуемость равна

$$h^2 = \frac{r}{\sqrt{1/2}}.$$

При случайном скрещивании это дает

$$h^2 = \frac{0,59}{0,7071} = 0,834.$$

Очевидно, что рост в основном детерминирован генетически, но существует компонента величиной 0,166 = 1 – 0,834, не учитываемая аддитивной генетической дисперсией. Это может быть следствием главным образом «средовых факторов». Говорят ли эти данные о каком-либо влиянии среды?

Те же данные можно представить иначе (табл. 3.17 и 3.18). Иным в этом случае будет и характер расхождения с теоретически ожидаемыми значениями. При аддитивном действии генов среднее значение признака у детей должно быть равно полусумме родительских значений, т.е. должно совпадать со средним значением признака у родителей. Однако это не так, имеющиеся данные обнаруживают другую закономерность: если среднее значение признака у родителей выше популяционной средней, то среднее значение признака у детей оказывается меньше родительской средней. С другой стороны, если среднеродительское значение ниже популяционной средней, то среднее значение признака у детей выше такового среди родителей. Итак, среднее значение признака у детей имеет тенденцию к отклонению от родительской средней в направлении популяционной средней.

Это явление было описано Гальтоном и названо им «регрессией на среднюю». Оно имеет место и для других непрерывно распределенных признаков (рис. 3.56).

Какова же причина такого расхождения с теоретически ожидаемыми значениями? Вероятно, те индивиды, которые «располагаются» на периферии кривой распределения, несут генетические факторы, обуславливающие крайний фенотип, и, кроме того, находятся под влиянием необычных условий среды. Можно предположить также, что за проявление крайних фенотипов ответственны специфические межгенные взаимодействия и взаимодействия генов и среды. Маловероятно, что дети таких индивидов извлекут пользу из тех условий среды и генотип-средового взаимодействия, которые «поместили» их родителей в крайние классы распределения. Гораздо более вероятно, что фенотипические значения признака у детей будут в большей степени походить на популяционную среднюю, т.е. будет иметь место регрессия на среднюю.

### 3.6.1.7. Количественная генетика; концепции Менделя и Гальтона

Как связаны между собой две концепции, на которых основывается генетика человека? Представление о гене возникло на основе экспериментов Менделя (разд. 1.4), концепция Гальтона опирается на корреляцию между родственниками и регрессионный анализ. Теоретически между ними можно найти связь, в частности, корреляции среди родственников можно интерпретировать в терминах действия индивидуальных генов, как это впервые детально было показано Фишером (1918) [664]. Био-



**Рис. 3.56.** Корреляция по росту между средним родителем и ребенком; регрессия на среднюю. (Чертеж и надписи Гальтона.)

метрический анализ корреляций может дополнить генетический анализ.

Как уже упоминалось во введении, длительный успех научной теории зависит в основном от ее ценности, т. е. от глубины объясняющей мощи. Следовательно, полезно сравнить две концепции в отношении значимости их теоретических основ, используя некоторые критерии, развитые в философии науки [243]. В соответствии с Бунге (1967) «основные требования, предъявляемые к научной теории, следующие: 1) она должна *систематизировать знания* путем установления логических отношений между отдельными, ранее несвязанными фактами; в частности, объяснять эмпирические обобщения путем получения их из гипотез более высокого уровня; 2) *объяснять факты* с помощью систем гипотез, из которых вытекают утверждения, отражающие эти факты; 3) *углублять знание* путем формирования новых утверждений (например, предсказаний) на основе относящейся к предмету информации; 4) *повышать тестируемость гипотез*, подвергая каждую из них проверке с помощью других гипотез общей системы...»

«Некоторые научные теории не только согласуются с основными требованиями (1)–(4), но, кроме того, могут: 5) *направлять исследования* либо (а) формулируя или переформулируя актуальные проблемы, либо (б) предлагая сбор новых данных, немислимых вне этой теории, либо (в) предлагая существенно новые направления исследования; 6) *структурировать некоторую область реальности*, т. е. давать представление... о реальных объектах, а не просто некую сумму данных и способ их получения».

Бунге привел дарвиновскую теорию эволюции в качестве примера теории, которая удовлетворяет всем перечисленным выше критериям. Вообще способность теории решать задачи зависит от ее глубины. Глубину научной теории оценивают по: уровню обобщений, наличию механизма и объясняющей силе. Действительно, только посредством формулирования далеко идущих (трансэмпирических) концепций, на основе которых можно раскрыть «механизмы» того, что скрыто в глубинах.

Менее глубокие теории называют «феноменологическими» в отличие от теорий,

выдвигающих в качестве гипотез определенные «механизмы». (Их часто называют «репрезентационными» или «механизменными».) Такие глубокие механизменные теории вознаграждают своих создателей: оказывается, что их объясняющая сила простирается за пределы того явления, ради которого они были созданы.

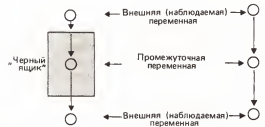
Когда теории, развитые на основе концепций Гальтона и Менделя, сравнивают по этим критериям, то оказывается, что гальтоновский подход породил феноменологическую теорию. Пирсон, знаменитый ученик Гальтона, еще в 1904 г. указывал, что количественное сравнение фенотипов родственников с помощью биометрических методов ведет к «чисто описательной статистической теории». До определенной степени она систематизирует знания, но выдвигает неспецифические гипотезы. На ее основе сходство между родственниками можно объяснить наследственностью или, более определенно, аддитивным генным действием без или с вкладом доминирования или средовых факторов. Такие утверждения носят слишком общий характер, и только дополнительные гипотезы могут иногда усилить их значимость. В качестве примера можно привести эффект Картера, описанный в разд. 3.6.2.3: более высокая частота врожденных дефектов у родственников пробандов-женщин была предсказана и объяснена дополнительной гипотезой об идентичности распределения генов подверженности у обоих полов, несмотря на неравное распределение по полу среди пробандов. Условия 5) и 6) для концепции Гальтона вовсе не выполняются: проблемы нельзя переформулировать в более плодотворной форме и теория не предлагает способа получения новых данных. Она предлагает лишь очевидное: сравнение родственников.

Обратимся к результатам, полученным последователями Менделя. Вскоре после переоткрытия его законов было сформулировано представление о единице наследования, рекомбинации и функции, которая теперь называется «геном». Благодаря этому был открыт путь для исследования механизмов репликации, рекомбинации и действия генов. Поэтапное раскрытие

этих механизмов составило, по-существу, историю генетики и до сих пор является предметом ее исследований. Теория Менделя объясняет не только передачу признаков от родителя детям, но и в ряду поколений различных клеток организма.

Объясняющая мощь этой теории еще не исчерпана. Возвращаясь к нашей классификации генетического анализа (т. е. на уровне ДНК – генный уровень, на уровне генного продукта – биохимический уровень, на качественном фенотипическом уровне, на уровне количественного фенотипа – биометрический уровень), можно сказать, что гальтоновский биометрический подход дает ответы на уровне, дальше всего отстоящем от генного действия. Другими словами, исследования с помощью методов биометрической генетики руководствуются теорией «черного ящика». Две внешние наблюдаемые переменные (измерения признака у родителей и детей или других групп родственников) сравниваются друг с другом, но промежуточная биохимическая переменная неизвестна и остается в «черном ящике» (рис. 3.57).

Все в человеке – его развитие, строение и функции – в конечном счете контролируется генами. Различия между людьми можно продемонстрировать указанием на



**Рис. 3.57.** Отличия гипотезы «черного ящика» и механизменной гипотезы. В гипотезе «черного ящика» (слева) промежуточная переменная, лежащая в основе влияния одной наблюдаемой переменной на другую, остается неизвестной. В механизменной гипотезе (справа) промежуточную переменную можно дедуцировать (предположить) на основе научной теории, а затем предложить механизм, посредством которого одна наблюдаемая переменная влияет на другую.

физиологические, биохимические и иммунологические особенности каждого индивида. Генетическую детерминацию этих особенностей можно показать с помощью семейного анализа. У монозиготных близнецов все гены являются идентичными, вот почему такие близнецы будут больше походить друг на друга, чем любые другие родственники. У сиблингов 50% общих генов, тогда как у более отдаленных родственников лишь малая часть генов является общей.

Сравнение родственников на основе биометрических методов анализа фенотипа, вероятно, должно ответить на вопрос, лежат ли в основе этого признака генетические факторы. «Наследуемость» или доля общей изменчивости, приписываемая генетической причине, обычно оценивается величиной, большей нуля. Поскольку главная биологическая основа поведения человека связана с мозгом, а мозг, как любой другой орган, обнаруживает генетическую изменчивость, вероятно, должны существовать и генетические факторы, определяющие поведение. Для поведенческих признаков особенно трудно отделить действие общих генов от действия общей среды в семье, что, в частности, ведет к трудностям в интерпретации.

Однако анализ любого признака человека, и в особенности поведенческого, может дать больше существенной информации, если фенотип исследуется с помощью менделевского подхода на уровне генового действия. «Черный ящик», таким образом, открывается, и неизвестная промежуточная переменная заменяется известным биохимическим механизмом.

В свете существенных различий научной значимости обеих теорий уместно, пожалуй, задать вопрос, почему множество работ в генетике человека все же использует гальтоновский подход? Большинство признаков человека, в особенности поведенческих и таких, как подверженность заболеваниям, просто не могут изучаться на основе менделевских принципов. Их использование предполагает, что изучаемый признак четко очерчен, для чего часто необходимо применение весьма сложных биологических методик всех типов. Выбор

таких признаков требует специальных знаний из области нормальной биологии и патологии человека и применения методов различных медико-биологических наук. С другой стороны, часто нетрудно подсчитать и измерить некий простой и очевидный количественный признак. Вот почему гальтоновский подход нередко служит первым шагом к дальнейшему анализу и может иногда привести к практически полезным результатам, несмотря на ограниченность самой теории.

Кроме того, гальтоновский подход продолжает быть важным для формулирования гипотез, для выбора признаков, которые будут изучаться более точными методами, и для разработки исследовательских стратегий. Признаки человека, контролируемые большим числом генов, каждый из которых вносит свой небольшой вклад в общую изменчивость, трудны для изучения на основе менделевского подхода. Следует помнить, однако, что для некоторых таких признаков аддитивно-полигенная модель может оказаться неадекватной. Вполне вероятно, что генетический контроль обеспечивается одним или несколькими генами с большим эффектом, который можно выявить индивидуально с помощью биологических методов, а остальные гены образуют всего лишь «генетический фон».

Итак, гальтоновский подход следует использовать, если нет альтернативы. Но не следует превращать его в самоцель. Вряд ли нужно с помощью компьютеров разрабатывать крайне сложные статистические подходы к вычислению коэффициентов наследуемости, чтобы оценить вклад различных наследственных, общесемейных и экономических факторов в изменчивость фенотипа или сравнить генетические модели без или с участием главных генов. Конечный результат таких упражнений часто оказывается неудовлетворительным, поскольку биологи нуждаются в более конкретных данных. Статистические методы, конечно, имеют огромное значение для генетического анализа человека, но они должны использоваться для проверки биологически хорошо обоснованных гипотез, сформулированных на основе мощной биологической теории. Для более глубокого



понимания биологии человека сложные статистические методы, используемые в анализе количественных признаков (на биометрическом уровне), на наш взгляд, менее полезны, чем более простые методы, применяемые в генетическом анализе на геном или биохимическом уровне.

Об этом необходимо помнить при знакомстве со следующим разделом, в котором будут излагаться более сложные модели наследования.

### **3.6.2. Мультифакториальное наследование в комбинации с пороговым эффектом**

#### **3.6.2.1. Описание модели: эксперименты на животных**

В предшествующем разделе генетический анализ количественного признака на биометрическом уровне обсуждался в отношении нормальных признаков с унимодальным и почти нормальным распределением в популяции. Было показано, что простая модель аддитивного полигенного наследования удовлетворяет этим свойствам, и тем самым корреляции родитель-ребенок и сибс-сибс можно использовать для оценки наследуемости.

Однако для многих болезней и врожденных пороков развития наблюдаются четкие альтернативные распределения: индивид либо страдает данным заболеванием, либо нет. Между тем ни семейные исследования, ни изучение хромосом не смогли выявить какой-либо простой тип наследования или наличие хромосомной аномалии. Единственное, что следует из семейных данных, — это возрастание эмпирического риска для близких родственников оказаться пораженными тем же заболеванием (семейное накопление). Патофизиологические исследования позволяют предполагать сложный комплекс причин. В некоторых случаях очевидно влияние различных дополнительных биологических факторов. Осложнения приносят и средовые факторы: неправильное питание, инфекции и неизвестные агенты. Когда все эти генетические и средовые факторы вместе превышают определенный по-

рог, способность организма сопротивляться оказывается ослабленной и индивид заболевает или умирает.

Термины «порог» и «подверженность» часто используются при обсуждении мультифакториального наследования. Порог подразумевает наличие резкого качественного различия: за этим порогом на шкале подверженности располагаются пораженные индивиды. Хотя понятие порога полезно для моделей мультифакториального наследования, вряд ли он на самом деле физически существует. Концепция подверженности подразумевает градуированный континуум возрастающей восприимчивости к заболеванию. Эта концепция сложнее аналитически, но с биологической точки зрения она, вероятно, применима к большинству ситуаций.

При редких заболеваниях с простым типом наследования мутация в единичном гене нарушает его функцию. В других случаях мутация приводит к трудностям лишь при особых обстоятельствах, как, например, при моногенно детерминированных реакциях на лекарства. Большинство признаков, однако, настолько сложны, что прямой анализ всех факторов оказывается практически невозможным, поскольку в подверженность вовлечено, вероятно, множество разных генов. Мы опять оказываемся в ситуации «черного ящика» — генетический анализ проще провести статистическими, нежели биологическими методами.

Генетические предсказания на таком сложном уровне должны основываться на нескольких предположениях:

1) подверженность к заболеванию распределена более или менее нормально, и распределение имеет одну моду;

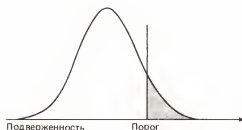
2) подверженность обусловлена большим числом генов, действующих аддитивно, и каждый из них вносит равный вклад;

3) когда подверженность превышает определенный порог, индивид заболевает или у него появляются нарушения. Хотя порог может быть четко определен, в большинстве случаев существует некоторая пороговая область, внутри которой от дополнительных средовых факторов будет зависеть, заболит индивид или нет. Если опи-

сывать это в тех терминах, которые были введены выше, то можно сказать, что наследуемость меньше единицы (рис. 3.58).

Очевидно, что эта модель слишком упрощает реальность, но она может быть полезна для понимания природы ряда широко распространенных заболеваний и пороков развития.

**Эксперименты на животных.** В экспериментальной генетике млекопитающих наследование некоторых признаков, например полидактилии у морской свинки (Райт [1961]), объясняли пороговым эффектом. Скрещивались две линии: представители одной имели три пальца на задних конечностях (норма), у животных другой линии было четыре пальца (морфологический вариант). В поколении  $F_1$  обнаружено лишь несколько особей с четырьмя пальцами, тогда как во втором поколении (в потомстве скрещивания  $F_1 \times F_1$ ) этот признак имелся примерно у четверти всех особей. Генетический анализ предположительно указывал на то, что скрещиваемые линии различаются по набору диаллельных систем с аддитивным эффектом четырех локусов: любое животное могло нести максимум восемь и минимум ноль положительных аллелей. При скрещивании двух гомозиготных линий ( $8 \times 0$ ) (рис. 3.59) гетерозиготное поколение  $F_1$  должно иметь четыре положительных аллеля. Такой генотип приводит к четырехпалым задним конечностям только в исключительных случаях. В поколении  $F_2$  ( $F_1 \times F_1$ ) присутствуют все комбинации положительных аллелей, что дает непрерывное распределение. В этом случае было принципиально показано, что аддитивное действие генов на самом деле может быть связано с

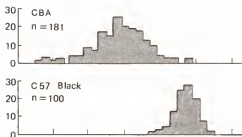


**Рис. 3.58.** Мультифакториальное наследование в сочетании с пороговым эффектом — простейшая ситуация. Подверженность заболеванию в общей популяции имеет нормальное распределение; индивиды справа от порога поражены болезнью.



**Рис. 3.59.** Мультифакториальное наследование в сочетании с порогом — наличие лишнего пальца у морских свинок. Две родительские линии: одна с тремя пальцами, другая с четырьмя. Часть гибридов поколения  $F_1$  имеет четыре пальца. Генетический анализ выявил восемь аллелей, ответственных за этот признак. Частота особей, у которых имеется лишний палец, зависит от числа «плюс» аллелей [1961].

пороговым проявлением (рис. 3.59). В другом примере удалось продемонстрировать не только дискретное, но и непрерывное фенотипическое выражение количественно варьирующей подверженности. Грюнберг (1952) [690, 691] анализировал такую систему у мыши. В инбредной линии CBA у многих особей отсутствует третий молярный зуб; у 133 из 744, т. е. по крайней мере у одной мыши из пяти. Однако в черной линии C57 этот моляр почти всегда имеется. Скрещивание двух линий (CBA  $\times$  C57) обнаружило, что тип наследования не является простым, несмотря на то что признак (зуб присутствует или отсутствует) обнаруживает четко выраженное



**Рис. 3.60.** Распределение размеров третьего нижнего моляра в двух инбредных линиях мышей: CBA (вверху) и C57 black (внизу) [690].

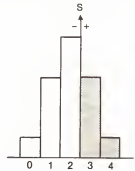
альтернативное проявление. Даже у животных линии СВА с лишним зубом его размер был в среднем намного меньше, чем в черной линии С57 (рис 3.60). Следовательно, у животных линии СВА размер зуба варьирует непрерывно вплоть до определенного минимального порогового размера. Ниже этого порога зуб не формируется вовсе. Грюнеберг назвал это явление «квазинепрерывной изменчивостью». Сам по себе порог не очень четкий, правильнее говорить о некоторой пороговой области. Мультифакториальность генетической системы очевидна лишь при сопоставлении явных различий между двумя линиями и в скрещиваниях между ними. Внутри генетически однородной линии СВА изменчивость обусловлена только средовыми факторами.

Предпринимались неоднократные попытки продемонстрировать непрерывно распределенную подверженность и дискретные пороги у людей (см., например [619]), но в большинстве случаев имело место лишь дискретное проявление: «поражен» или «не поражен». Чтобы установить характер внутрисемейного распределения признака с пороговым проявлением в общем случае, рассмотрим теоретическую модель.

### 3.6.2.2. Простая теоретическая модель

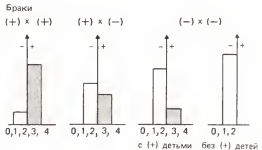
Напомним модель, описанную в разд. 3.6.1: две пары аллелей с равными и аддитивными вкладами и частотами  $p_1 = p_2 = q_1 = q_2 = 0,5$ . Предполагается, что эта генетическая система детерминирует подверженность. Заболевание проявляется, если в генотипе индивида имеются три или четыре плюс-аллеля (A или B) (рис. 3.61). Относительное число пораженных и непораженных детей в браках плюс × плюс (пораженный × пораженный), плюс × минус (пораженный × непораженный) и минус × минус (непораженный × непораженный) показано на рис. 3.62.

Эти значения сильно напоминают частоты при простом аутосомно-доминантном типе наследования: для брака плюс × плюс они почти идентичны, если среди плюс-родителей предполагается определенное количество гомозигот. Для брака плюс × минус ожидаемые частоты почти



**Рис. 3.61.** Мультифакториальное наследование двух пар аллелей A, а и B, b в сочетании с порогом: распределение фенотипов (□ соответствует минус-фенотипу, ■ плюс-фенотипу) в случайно скрещивающейся популяции. Частоты аллелей  $A = B = a = b = 0,5$ . Возможны пять фенотипов (0, 1, 2, 3, 4).

совпадают, но для аддитивной модели они немного ниже. Все же регулярное доминирование с полной пенетрантностью у гетерозигот почти всегда четко отличимо от мультифакториального наследования, особенно если имеются данные по крайней мере о трех поколениях в семье. Однако при неполной пенетрантности проблема дискриминации от мультифакториального наследования с пороговым проявлением становится крайне затруднительной: в этом случае можно ожидать, что в некоторых sibствах оба родителя будут непораженными, а сегрегационное отношение окажет-



**Рис. 3.62.** Относительная частота детей (+) и (-) в четырех разных типах браков в соответствии с генетической моделью, описанной на рис. 3.61.

ся меньше 0,5. Тогда может помочь сравнение sibсов от браков плюс  $\times$  минус и минус  $\times$  минус. В мультифакториальной модели ожидается меньшая доля пораженных среди детей двух непораженных родителей по сравнению с sibсами, у которых один родитель поражен. При простом аутосомном доминировании и полной пенетрантности сегрегационные отношения в обоих типах семей должны быть идентичны. Правда, этот аргумент можно оспорить, утверждая, что на пенетрантность повлиял генетический фон, но тогда проблема становится в значительной степени семантической: с самого начала было очевидно, что предположение о равном влиянии на проявление данного признака всех генов является сильным упрощением. Однако если вклад генов считать неравным, то начиная с какого уровня влияния одного локуса на фенотипическую изменчивость мы можем говорить об эффектах «главного гена»?

В приложении 4 будет рассмотрена более общая модель мультифакториального наследования признака с пороговым проявлением. Описываемые ниже критерии мультифакториального наследования, позволяющие отличить этот тип от простого диаллельного моногенного наследования, интуитивно следуют из описанной выше простой специальной модели, но их можно получить вполне строго из более общей модели, описанной в приложении 4.

### 3.6.2.3. Как нужно использовать модель для анализа данных [925]?

В анализе реальных данных теоретические результаты этого раздела следует использовать критически. Как уже неоднократно упоминалось, мультифакториальная модель является абстрактной и слишком упрощает сложную мозаику взаимодействия множества генов, формирующего подверженность. Кроме того, на практике обычно имеют дело с ограниченным объемом данных, что приводит к большой выборочной дисперсии.

*Качественные (или полуколичественные) критерии мультифакториального наследо-*

**Таблица 3.19.** Конкордантность близнецов при разных типах наследования

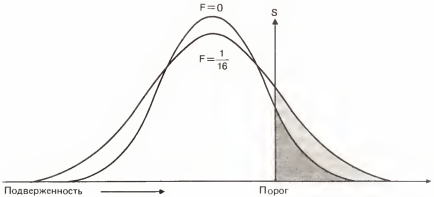
	Конкордантность МЗ близнецов	Конкордантность ДЗ близнецов
Аутосомно-доминантное наследование	100%	50%
Аутосомно-рецессивное наследование	100%	25%
Мультифакториальное наследование	~ 40–60%	~ 4–8%

вания. Можно сформулировать четыре таких критерия.

1. Близнецовый критерий: если конкордантность монозиготных (МЗ) близнецов вчетверо выше, чем конкордантность дизиготных (ДЗ) близнецов, то мультифакториальная модель более адекватна, чем простая диаллельная модель (табл. 3.19). Обратное неверно: если отношение конкордантностей меньше четырех, то мультифакториальная гипотеза необязательно должна быть отвергнута.

2. Сегрегационное отношение пораженных и непораженных sibсов в браках плюс  $\times$  минус и минус  $\times$  минус: если доля пораженных sibсов в браках с одним пораженным родителем выше в 2,5 раза (и более), чем та же доля среди детей в браках с двумя непораженными родителями, то следует предпочесть мультифакториальную модель. Но и в данном случае надо помнить, что если указанное отношение меньше 2,5, то это еще не исключает мультифакториальное наследование.

3. Соотношение полов пораженных: многие признаки, в отношении которых следует рассматривать мультифакториальное наследование, обнаруживают половые различия по распространенности в популяции. В большинстве случаев лишь малая доля таких различий может быть обусловлена генами собственно половых хромосом. Основные источники этих различий связаны с физиологией пола. Если это так, то разумно предположить, что генотипическая компонента подверженности имеет одинаковое распределение для обоих полов, но пороги проявления признака раз-



**Рис. 3.63.** Распределение генетической подверженности при случайном скрещивании и при  $F = 1/16$  (брак двоюродных сибсов). Области справа от порога указывают возрастание частоты порогового признака. S – порог.

личаются. Отсюда следует, что пораженные того пола, у которого более высокий порог проявления, будут иметь в среднем и более высокое индивидуальное значение по сравнению с индивидами другого пола. Система подверженности такого рода должна отражать различия в частоте пораженных родственников: у пробандов реже поражаемого пола больные родственники должны встречаться чаще, чем у пробандов чаще поражаемого пола (если, конечно, сравниваются одинаковые степени родства). Этот результат впервые был сформулирован Картером [601] и иногда называется эффектом Картера. Он был продемонстрирован на примере пилоростеноза – врожденной аномалии, при которой утолщение мышечного слоя пилоруса препятствует выходу содержимого желудка в двенадцатиперстную кишку. Хотя этот дефект встречается у новорожденных мальчиков чаще, чем у девочек, однако было показано, что среди родственников пораженных девочек пилоростеноз встречается чаще, чем среди родственников пораженных мальчиков (см. табл. 3.20 и рис. 3.65). Эффект Картера был продемонстрирован также для одной из особенностей электроэнцефалограммы (так называемые «диффузные»  $\beta$ -волны), которая встречается чаще у женщин, чем у мужчин. В этом случае родственники пробандов мужского пола намного чаще об-

**Таблица 3.20.** Пилоростеноз: частота среди близких родственников пробандов мужского и женского пола (Fuhrmann, Vogel, 1983 [71])

Тип родства	Число и пол пробандов			
	$\bar{X} = 281$ абсолютное значение	%	$\bar{X} = 149$ абсолютное значение	%
Брат	5/230	2,17	11/101	10,89
Сестра	5/242	2,07	9/101	8,91
Сын	19/296	6,42	14/61	22,95
Дочь	7/274	2,55	7/62	11,48
Племянник	5/231	2,16	4/60	6,67
Племянница	1/213	0,47	1/78	1,28
Двоюродный брат	6/1061	0,57	6/745	0,81
Двоюродная сестра	3/1043	0,29	2/694	0,29

наруживают ту же особенность ЭЭГ, чем родственники пробандов женского пола [921]. С другой стороны, эффект Картера не удалось выявить для аномалий типа «заячьей губы» и «волчьей пасти», для которых, вообще говоря, ожидалось, что среди родственников пробандов-женщин будет больше пораженных, так как женский пол поражается в этом случае реже.

4. Кровное родство: в обсуждаемых моделях предполагается случайное скрещивание. Однако в случае кровного родства

распределение подверженности в популяции характеризуется более высокой дисперсией:

$$V_F \sim V_O \cdot (1 + F). \quad (3.9)$$

Здесь  $F$ -коэффициент инбридинга,  $V_F$ -дисперсия среди всего потомства в браках с коэффициентом инбридинга  $F$ ,  $V_O$ -дисперсия при случайном скрещивании (рис. 3.63). На рис. 3.64 показано увеличение частоты пораженных среди детей от браков двоюродных сибсов ( $F = 1/16$ ) относительно частоты пораженных в панмиксной популяции. Для сравнения представлено на много более выраженное увеличение частоты, наблюдаемое для моногенного аутосомно-рецессивного наследования. Однако в большинстве случаев более подходящей альтернативой мультифакториальной модели будет скорее аутосомно-доминантное наследование с неполной пенетрантностью, чем аутосомно-рецессивное. Следовательно, умеренное увеличение частоты признака, связанное с повышением уровня инбридинга, является дополнительным аргументом в пользу мультифакториальной модели против аутосомно-доминантной при условии, конечно, что примесь семей с редким аутосомно-рецессивным сходным признаком исключена.

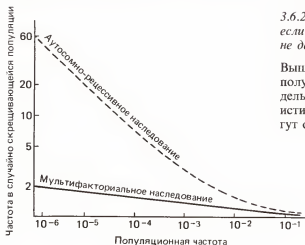
**Количественные критерии.** Полуколичественные критерии, на которых основывается генетическая модель, не могут полностью

удовлетворить нас. Необходим метод количественного сравнения. В этом случае на основе наблюдаемых частот в выборке можно вычислить 95%-ные доверительные интервалы для теоретически ожидаемых частот  $Q_{11}$ ,  $Q_{21}$  и  $Q_{22}$  среди детей браков минус  $\times$  минус, плюс  $\times$  минус и плюс  $\times$  плюс и узнать, попадают ли ожидаемые значения в эти доверительные интервалы (приложение 4). Однако лучше, по-видимому, проверить, соответствует ли общее распределение всех частот среди разных типов родственников тем ожидаемым значениям, которые получаются на основе как одной, так и другой модели. Такие методы были описаны Мортонем и соавт. [804] и Смитом [875а]. (Смотрите, например, исследование по врожденной глаукоме [628].)

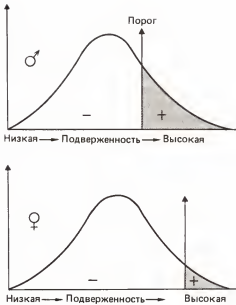
Сначала определяют частоту изучаемого признака среди родственников пробанда. Затем совместную вероятность всех этих частот сравнивают с соответствующими теоретически ожидаемыми значениями, с одной стороны, для мультифакториальной модели, а с другой — для диаллельной моногенной модели. Если одна из моделей дает результаты, содержащиеся внутри доверительных интервалов, а другая обнаруживает значимые отклонения, то принимается первая модель. Вычислительные аспекты будут рассмотрены в приложении 4. Ряд авторов [646; 852; 963] предложили сходные методы идентификации эффектов «главных генов».

*3.6.2.4. Какой вывод следует сделать, если статистический анализ не дает четкого ответа?*

Выше уже указывалось, что совместимость полученных данных с генетической моделью еще не означает, что эта модель истинная. Совершенно разные модели могут одинаково хорошо соответствовать од-



**Рис. 3.64.** Возрастание частоты аутосомно-рецессивных и мультифакториальных признаков среди детей в браках двоюродных сибсов в сравнении с популяционной частотой.



**Рис. 3.65.** Мультифакториальное заболевание может быть более частым среди лиц определенного пола. Например, пилоростеноз чаще встречается у мужчин, чем у женщин. Можно предположить, что генетическая подверженность идентична для обоих полов, но положение порога на шкале подверженности разное. В результате пораженные мужчины в среднем проявляют признак с меньшей генетической подверженностью, чем в среднем пораженные женщины. Следовательно, частота такого признака среди родственников пробандов мужского пола ожидается ниже, чем среди родственников пробандов женского пола, которые несут больше генов предрасположенности, чем пораженные мужчины. Этот феномен иногда называют «эффектом Картера» [601].

ним и тем же данным. Как показано выше (а также в приложении 4), имеется существенное перекрывание ожидаемых значений в разных моделях, в частности в описанных здесь для примера диаллельной моногенной и мультифакториальной. Общее правило состоит в том, что гипотезу можно отвергнуть, если она не соответствует наблюдениям, но она и не может быть принята до тех пор, пока не исключены все другие возможные гипотезы. Однако спе-

циалист по генетике человека, часто имеющий дело с просто наследующимися аномалиями, нередко забывает это правило, поскольку в обычных условиях менделевского наследования между наблюдением и генетической гипотезой имеется вполне прямая связь.

Как следует поступать, когда статистические данные не позволяют выбрать какую-либо из этих гипотез? Наиболее очевидный ответ — оставить проблему открытой. Необходимо более тщательное изучение таких случаев.

Гипотеза главного гена обладает многими преимуществами с точки зрения стратегии исследования. Аномалия, обнаруживающая простой тип наследования, должна иметь и четкую биохимическую причину: недостаток или нарушение нормального генного продукта структурного или регуляторного гена. Принятие гипотезы главного гена естественным образом ведет к биохимическому анализу этой причины. Такие исследования для аутосомно-доминантных признаков останутся еще в очень зачаточном состоянии (разд. 4.6). Для мультифакториальных признаков, обусловленных комбинациями различных малых физиологических отклонений (действующими, вероятно, вместе со средовыми факторами), гипотеза главного гена обычно ни к чему не приводит и поэтому вызывает у исследователей только разочарование. Примером может служить исследование нейрофизиологических, биохимических и иммунологических основ шизофрении (разд. 8.2.3.7).

Модель мультифакториального наследования более осторожная и консервативная: применяя ее как аналитический аппарат первичного описания данных, мы осознаем, что она ограничена анализом на уровне, наиболее удаленном от действия гена, — «черный ящик» все еще нужно открывать. Размышляя о выборе стратегии, мы не должны двигаться лишь в одном направлении увеличения мощности генетической гипотезы, а должны оставлять открытыми и другие возможности. Если, следуя какой-нибудь одной из них, мы на самом деле приходим к открытию действия главного гена, это переводит наш анализ на

более глубокий генетический или биохимический уровень. Однако если попытка не увенчается успехом, то мы все же увидим, как малое отклонение какого-то физиологического параметра (которое присутствует лишь у части пробандов) может взаимодействовать с другими малыми отклонениями и тем самым формировать истинно мультифакториальную подверженность заболеванию. Кроме того, с помощью других исследовательских стратегий, предназначенных для более тонкого изучения на уровне, более близком к действию гена, можно попытаться рассмотреть по крайней мере какую-то одну компоненту мультифакториальной системы.

Следовательно, если с помощью четкого генетического или биохимического (или обоих) критериев нельзя определенно установить действие единичного гена, то принятие более общей мультифакториальной модели является мудрым решением. Однако мы должны помнить, что на самом деле во многих случаях нельзя исключить главный ген. Это обстоятельство очень важно учитывать, особенно если речь идет об оценке генетического риска, связанного с мутагенными факторами (разд. 5.2.1): однозначное принятие мультифакториальной модели может привести к недооценке генетической опасности. Чтобы избежать этой ошибки, следует помнить о результатах некоторых экспериментов в генетических исследованиях млекопитающих.

### *3.6.2.5. Индуцированные радиацией доминантные мутации у мыши: мутации главных генов, не выявленные у человека*

Экспериментальная работа с млекопитающими, физиология развития которых ближе всего к человеку, показывает, как действие главного гена может быть скрыто за фенотипической изменчивостью организма. Такие главные гены идентифицируются с помощью подходящих экспериментальных скрещиваний или на основе фенотипического анализа индуцированных мутаций. Мы обсудим один пример, который важен также для оценки риска индуцированных мутаций у человека [865; 640].

Генетические дефекты, связанные с доминантными мутациями, можно выявить путем сравнения потомков первого поколения от опытных и контрольных животных. Однако для многих признаков трудно провести различие между вновь возникшими мутациями и внутрилинейной изменчивостью. Эта трудность была преодолена для некоторых скелетных аномалий у мыши. В мутационном эксперименте аномалии, наблюдавшиеся в поколении  $F_1$ , можно разделить на те, которые проявляются крайне редко на протяжении всего эксперимента (класс 1), и на такие, которые встречаются много чаще (класс 2). Разумная рабочая гипотеза (при исследовании многих сотен особей) заключается в предположении, что большинство очень редких аномалий (класс 1) имеют мутационное происхождение, тогда как большинство частых аномалий (класс 2) обусловлены внутрилинейной изменчивостью. Согласно этой гипотезе, мутагенные факторы типа ионизирующей радиации должны повысить количество первично очень редких (класс 1) аномалий. Это подтверждено в достаточном количестве экспериментов с ионизирующей радиацией и химическими мутагенами.

Фенотипически большинство редких (класс 1) и более распространенных (класс 2) аномалий представляют собой множественные минорные варианты скелета. Некоторые из них, например аномалии позвоночника, вредны в разной степени. Относительно 31 аномального варианта скелета с помощью экспериментальных скрещиваний было подтверждено, что они вызываются доминантными мутациями. Выделим две характеристики этих доминантных мутаций.

1. Некоторые или все аномалии мутационного происхождения имеют низкую пенетрантность.

2. Морфологически можно выявить лишь небольшую долю этих мутаций, и те, которые можно выявить, не проявляются у большинства носителей гена. Экспериментальные скрещивания показали, что в потомстве особей  $F_1$  вероятность выщепления аномальных фенотипов оказывается гораздо ниже ожидаемой 0,5.

Сопоставляя эти результаты с данными

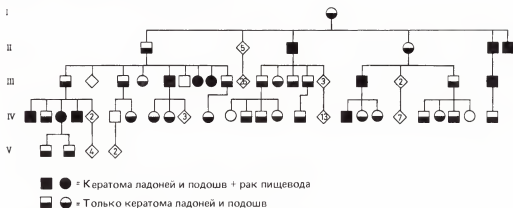


по доминантным мутациям у человека, можно предположить, что трудности выявления таких мутаций у мыши не столь актуальны для человека, тщательное медицинское обследование позволяет идентифицировать большинство этих мутаций. При рассмотрении доминантных генов с неполной пенетрантностью очень важной проблемой остается установление низкой пенетрантности аутосомных мутаций. Кроме того, часто регистрируемые аномалии обнаруживают поразительную степень изменчивости между особями, несущими мутантные гены, идентичные по происхождению. С другой стороны, фенотипические спектры одной и той же аномалии у носителей разных мутаций сильно перекрываются. Фенотипические проявления некоторых мутаций были почти идентичными. Для сравнения этих результатов с генетическими данными у человека необходимо было бы выявить у него уродства скелета, сходные с таковыми у мыши. Попытки такого рода уже предпринимались, но из-за неразработанности вопросов генетики скелетных аномалий человека большого успеха достичь не удалось. Недавний «всплеск» новых исследований в этой области [774], возможно, приведет к пересмотру накопленных данных и некоторых обобщений. Обескураживает, однако, то обстоятельство, что до сих пор не удается найти у мыши скелетные мутации, идентичные мутациям у человека. Описанные эксперименты оставили нерешенными некоторые вопросы, в частности вопрос о возможности незначительных хромосомных перестроек. В порядке рабочей гипотезы можно выдвинуть следующее предположение: у человека существует большое количество доминантных мутаций, вызывающих широкий диапазон морфологической изменчивости и, вероятно, оказывающих влияние на здоровье. Однако современные методы фенотипического анализа весьма несовершенны и не дают возможность раскрыть генетическую основу этой изменчивости.

### 3.6.2.6. Идентификация элементарных клиничко-генетических вариантов моногенного наследования с использованием дополнительных фенотипических критериев

Иногда в пределах большой гетерогенной группы больных можно выделить отдельные формы патологии с отчетливо менделевским наследованием. Это удается сделать на основе детального клинического изучения, лабораторных исследований и генетического анализа. Данные, полученные при этом, позволяют отделить генетические случаи от негенетических. Подобные результаты были получены для умственной отсталости [2157], глухоты [669] и слепоты [670]. С развитием и совершенствованием нозологии в области психоневрологии и с повышением уровня клинических исследований некоторые задержки умственного развития, которые ранее относили к общей группе клинически недифференцированных форм, теперь можно достаточно четко классифицировать. В качестве примера весьма распространенного признака можно упомянуть X-сцепленную форму умственной отсталости с маркерной «ломкой» X-хромосомой [2220]. Успешными в этом смысле были также исследования слепых и глухих детей, живущих при лечебных учреждениях. Оказалось, что около 50% всех случаев глухоты и слепоты имели генетическую природу. И практически все эти случаи были скорее менделевскими, чем мультифакториальными. Среди них было найдено много разных клинических форм с простым типом наследования.

Почти всегда в рамках мультифакториального заболевания можно идентифицировать редкие менделевские варианты. Так, X-сцепленная недостаточность фермента HGPRT составляет 1% всех случаев подагры. Некоторые случаи гипертонической болезни вызываются редкой наследственной феохромоцитомой. Желтая болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки выступает как часть симптомокомплекса при болезни Золлингера-Эллисона. Рак пищевода иногда возникает при генетически обусловленных кератомах одновременно на ладонях и подошвах (рис. 3.66).



**Рис. 3.66.** Рак пищевода как дополнительный симптом (■) у больных особой аутомно-доминантной формой кератоматоза ладоней и подошв [716].

Имеется ряд синдромов, при которых рак оказывается частью более сложной плейотропной картины (разд. 5.1.6). Иногда в семьях наблюдается доминантное наследование более или менее распространенных форм рака. В этом случае раннее начало и множественные поражения помогают отделить эти проявления главного гена от обычных типов рака. В родословной на рис. 3.66 возраст проявления рака приходился на 34, 37, 38, 43, 44, 45, 46, 52 и 63 года. Однако все эти случаи, кроме последнего, очень необычны для рака пищевода. В дерматологии наблюдается множество как изолированных, так и семейных случаев доброкачественных и злокачественных опухолей. Установлено правило [84], согласно которому единичные опухоли у одного больного имеют негенетическое происхождение, тогда как множественные опухоли имеют тенденцию наследоваться, причем часто обнаруживают аутомно-доминантный тип наследования (см. также раздел 5.1.6).

### 3.6.2.7. Как анализировать мультифакториальный признак, если отдельные формы с простыми типами наследования выделить нельзя?

Сложный функциональный дефект вызывается комбинацией малых нарушений. Как упоминалось выше, аддитивно-полигенная модель, используемая для анализа мультифакториального наследования, является слишком упрощенной абстракцией. В действительности изменчивость не одномерна, и к определенному заболеванию может

**Таблица 3.21.** Частота косоглазия среди сибсов пробандов с косоглазием (Richter, 1966) (Vogel, Krüger, 1967 [925]) (+-манифестная форма)

Тип брака родителей	Количество пробандов	Количество сибсов	Косоглазие у сибсов
Серия из 697 больных (4–7 лет)			
+ × +	24	33	11 (33,3%)
+ × –	288	301	95 (30,6%)
– × –	385	478	98 (20,5%)
Серия из 136 школьников (12 лет)			
+ × +	1	6	3 (50,0%)
+ × –	61	120	52 (43,3%)
– × –	69	82	5 (29,3%)
Популяционная частота косоглазия 3–4%			

*Данные Рихтера о косоглазии у близнецов (1966)*

	Конкордантные	Дискордантные	Всего
Монозиготные близнецы	11	1	12
Дизиготные близнецы	7	20	27
Всего	18	21	39

привести совместное действие ряда разных генетически детерминированных физиологических отклонений. Желательно идентифицировать хотя бы некоторые из таких факторов.

В двух выборках детей с косоглазием, обследованных одним автором [856], были получены данные о родителях и sibсах (табл. 3.21). Из 12 пар монозиготных близнецов 11 были конкордантными, тогда как из 27 пар дизиготных близнецов конкордантными были лишь 7. Эти данные говорят о мультифакториальном наследовании. Нельзя, конечно, исключать и неполное доминирование, но для этого потребовалось бы постулировать влияние генетического фона.

Известно, что косоглазие является конечным результатом ряда незначительных физиологических отклонений. Каждое из них в отдельности можно преодолеть и восстановить нормальное зрение. Но когда проявляется целая совокупность таких нарушений, регуляторная способность зрительной системы декомпенсируется и появляется косоглазие. Показано, что такие нарушения часто обнаруживаются у близких родственников пробанда. В родословной на рис. 3.67 трое больных детей с косоглазием; двое родителей обнаруживают изолированную гетерофорию (легкую моторную недостаточность). Один родитель имел изолированную аномалию рефракции глаза, другой – гетерофорию. Выводы этого исследования о том, что косоглазие является мультифакториальным признаком и некоторые физиологические отклонения, вовлеченные в общую систему подверженности, можно идентифицировать, позже были подтверждены и расширены на примере изучения другой популяции [709].

Успешной оказалась также попытка дифференцировать генетическую компоненту подверженности при врожденном вывихе бедра. В этом случае было показано, что в подверженность вовлечены, вероятно, как аддитивно-полигенные факторы, определяющие поражение поверхности вертлужной впадины, так и моногенный фактор, обуславливающий общую слабость сочленения [619].

Семейные исследования, ориентированные на детальное изучение фенотипических проявлений с целью поиска сходных или ассоциирующих микроаномалий, несомненно могут помочь в понимании относительной важности отдельных элементов, приводящих в комбинации к сложному функциональному дефекту. Это возможно, даже если нельзя идентифицировать действие единичного гена.

Мультифакториальная система охватывает все факторы подверженности, которые могут привести к группе сходных заболе-

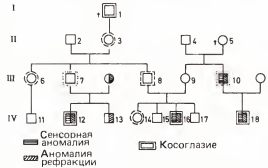


Рис. 3.67. Косоглазие у трех членов семьи. У других родственников обнаружены другие минорные аномалии. Точечными и штриховыми линиями обозначены различные пограничные случаи. Сенсорные аномалии, наблюдавшиеся в такой родословной, включали, например, амблиопию или несовершенное бинокулярное зрение [856].

ваний: отдельные формы проявляются при этом специфической комбинацией ряда факторов. Группа «атопических заболеваний» включает atopический дерматит, бронхиальную астму и сennую лихорадку. На рис. 3.68 приведены данные об относительной частоте пробандов с одной, двумя или тремя atopиями в популяции Цюриха [894]. В основном эти данные, включая семейные, совместимы с мультифакториальным наследованием. Можно, однако, поставить и такой вопрос, является ли гене-

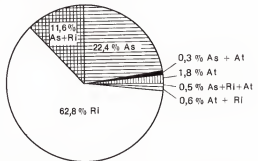
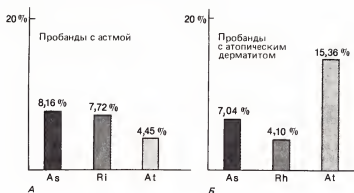


Рис. 3.68. Относительные частоты пробандов с одной, двумя или даже тремя atopическими заболеваниями. As – астма, Ri – ринит, At – atopический дерматит. (Данные из Цюриха, Швейцария; Schnyder, 1960 [894].)



**Рис. 3.69.** Частота атопических дерматитов и респираторных атопий у родственников пробандов с астмой (А), с атопическим дерматитом (Б). Ас – астма, Ри – ринит, Ат – атопический дерматит [924].

тическая компонента подверженности при атопических заболеваниях одномерной и количественной, или существуют другие генетические компоненты, отражающие органоспецифичность проявления заболевания?

Если подверженность имеет одномерное распределение, то кожные атопии (дерматиты) и дыхательные атопии (астма и сенная лихорадка) должны встречаться примерно с одинаковой частотой среди родственников пробандов как с кожными, так и с дыхательными атопиями. С другой стороны, если существует влияние органоспецифических факторов, то среди родственников пробандов должно наблюдаться определенное накопление сходных атопий.

Рис. 3.69 иллюстрирует результаты такого сравнения: среди родственников первой степени пробандов-астматиков дыхательные атопии встречаются чаще, тогда как среди родственников пробандов с дерматитами преобладают атопические дерматиты. Таким образом, в пределах мультифакториальной генетической системы, определяющей генетическую подверженность к атопическим заболеваниям, существуют как факторы общего характера, т.е. усиливающие общую подверженность при атопиях, так и действующие совместно с ними другие факторы, влияющие на поражение конкретных органов.

Подобный клинико-генетический анализ применим в большей степени, чем простые попытки подобрать значения общей частоты атопий, согласующиеся с ожидаемы-

ми значениями в рамках генетической модели, которая исходно является сильно упрощенной. Все же, несмотря на такое усложнение, генетический анализ остается по своему характеру биометрическим, т.е. далеким от непосредственного действия гена. Теперь на очереди задача «высвечения черного ящика». Так, можно показать, что аллергический насморк (сенная лихорадка) обусловлен взаимодействием двух генов, один из которых регулирует базальную продукцию IgE (иммуноглобулинов класса E), а другой влияет на продукцию IgE в реакции на конкретный аллерген. Второй из них идентичен или близко сцеплен с аллелем HLA-A2 [775]. Весьма возможно также, что существует генетический контроль на других уровнях иммунного ответа [844]. Представляет интерес вопрос о вероятном селективном преимуществе генотипов, связанных с атопическими заболеваниями, которое проявляется в более примитивных условиях жизни, что будет обсуждаться в разд. 6.2.1.

### 3.7. Генетический полиморфизм и патология

#### 3.7.1. Новая стратегия исследований

Чтобы глубже проникнуть в механизмы мультифакториального наследования, необходимо изменить стратегию исследований. Если прямой путь от фенотипа к генотипу не даст положительных результатов,

то более успешным может оказаться обратный путь от гена и его продукта к фенотипу.

На первый взгляд такое предложение звучит парадоксально: мы начинали с фенотипа, поскольку не было другого подхода к генотипу. Любой другой путь оказывался перекрытым самой природой генетического материала. Вместе с тем мультифакториальная модель основана на совместном действии многих генов. С другой стороны, анализ генетически полиморфных систем оказался успешным в раскрытии природы изменчивости генов, определяющих первичную структуру антигенов клеточной поверхности, а также ферментов и сывороточных белков с множеством разных (и во многих случаях неизвестных) функций. Следовательно, нет ничего искусственного в том, чтобы попытаться выяснить, не являются ли некоторые из этих полиморфизмов компонентами мультифакториальной подверженности при патологии.

Харрис и соавт. [1787] показали, что по крайней мере треть структурных генов, определяющих ферменты крови, полиморфна, т. е. и в «норме» далеко не все индивиды оказываются идентичными по производимым в их организмах генным продуктам: межиндивидуальные различия в структуре белков и ферментов — это обычная ситуация. По оценкам у человека имеется примерно от 50 000 до 100 000 структурных генов. Следовательно, теоретически должны существовать тысячи полиморфных систем, хотя сейчас выявлено лишь около 150. Вот почему, если не удастся «нащупать» какую-либо патофизиологическую связь, поиск маркеров, сцепленных с тем или иным заболеванием, будет скорее всего бесполезным. Важное направление исследований — выявление новых полиморфных систем, которые в ближайшем будущем могут оказаться полезными для поиска индивидуальных генов, вовлеченных в детерминацию заболевания. Обнаружение новых маркеров очень важно также с точки зрения полноты генетической карты человека.

### 3.7.2. Ассоциация заболеваний с группами крови

#### 3.7.2.1. Система АВО

Вскоре после открытия групп крови АВО были высказаны предположения об ассоциации этих антигенов с определенными заболеваниями. Первый этап исследований подобного рода достиг своей кульминации в 20-е гг. В это время некоторые авторы считали, что почти все широко распространенные заболевания ассоциируют с группами крови. Однако большинство этих исследований осуществлялось на относительно малом материале с применением неадекватных методов. Результаты оказались крайне противоречивыми. В последующие годы многие специалисты разочаровались в этой гипотезе, но в своей критике (в основном оправданной) они выплеснули «ребенка вместе с водой»: долгое время считалось, что группы крови не ассоциируют с заболеваниями.

*Ошибочная гипотеза ведет к важному открытию.* Открытие Rh-несовместимости матери и плода впервые продемонстрировало возможность ассоциации групп крови с заболеваниями. Спустя короткое время такая связь была обнаружена и для других распространенных заболеваний.

В 1953 г. была описана ассоциация между группой крови А и раком желудка [552]. Еще раньше, в 1950 г., Стокс показал, что смертность от рака желудка в городах северной Англии в среднем выше, чем в южной Англии. По его мнению, такой эффект мог объясняться присутствием на севере некоторого вещества, являющегося раздражающим агентом для слизистой оболочки желудка. Он обнаружил слабую корреляцию уровня заболеваемости с жесткостью воды (содержанием кальция): в городах со слабокальцинированной водой больных раком желудка было меньше.

Другой группе исследователей (Aird et al., 1953; [552]) показалось более реальным, что различие в заболеваемости раком желудка на севере и юге Англии детерминировано генетически. В то время были описаны линии мышей с высокой и низкой частотой рака. В поиске возможного генетического маркера они использовали аналогию с распределением антигенов АВО. В северной Англии чаще встречается группа О, а в южной — группа А. Рабочая гипотеза авторов

**Таблица 3.22.** Различия в относительных частотах групп крови А и 0 у больных раком желудка и в контрольной группе (Aird et al., 1953 [552])

	Случаи рака		Контроль		$\frac{A}{A+0} \cdot 100$		$\chi^2$
	0	A	0	A	Рак	Контроль	Различие
Манчестер	343	349	402	295	50,43	42,32	+8,11
Ливерпуль	85	97	108	86	53,30	44,33	+8,97
Лидс	92	104	102	87	53,06	46,03	+7,03
Бирмингем	37	57	50	44	60,64	46,81	+13,08
Ньюкастл	44	44	53	37	50,00	41,11	+8,89
Лондон	578	617	614	565	51,63	47,92	+3,71
Шотландия	245	174	252	155	41,53	38,08	+3,45
	1424	1442	1581	1269	50,31	44,53	+5,78
							19,198

Последний столбец содержит значения построчных  $\chi^2$ , вычисленных из таблиц  $2 \times 2$

	Степени свободы	$\chi^2$	P
Сумма единичных $\chi^2$	7	23,430	0,0015
Общий $\chi^2$			
для Англии и Шотландии	1	19,198	$10^{-4} - 10^{-5}$
$\chi^2$ гетерогенности	6	4,232	0,65

состояла в том, что группа О, вероятно, ассоциирует с предрасположенностью к раку желудка, что и определяет его более высокую частоту на севере Англии. Чтобы проверить эту гипотезу, они собрали сведения о больных раком в различных городах Англии и Шотландии и сравнили распределение групп крови АВО среди больных с распределением этих же антигенов в тщательно отобранных контрольных группах (как правило, это были больные, лечившиеся в тех же больницах, но по другому поводу).

В табл. 3.22 представлены результаты этого исследования. В противоположность рабочей гипотезе была обнаружена значимая ассоциация с группой крови А, а не О. Это исследование вызвало поток работ по ассоциациям групп крови с различными заболеваниями.

**Стандартный статистический метод [959].** Прежде чем описывать наиболее важные результаты, уместно объяснить суть стандартного статистического метода, используемого в этом анализе. В двух выборках — больных и контрольной — сравниваются частоты двух признаков (или

групп признаков, например, А против 0 или А + В + АВ против 0). Отношение

$$x = \frac{A(\text{Pat}) \times 0(\text{contr})}{0(\text{Pat}) \times A(\text{contr})}; \quad y = \ln x \quad (3.10)$$

должно быть равно 1, если отношение А/0 одинаково в обеих выборках, т. е. если нет ассоциации. [А(Pat) — абсолютное количество индивидов с группой А в выборке больных и А(contr) — абсолютное количество индивидов с группой А в контрольной выборке]. В противном случае отношение  $x$  будет больше или меньше 1. Это отношение  $x$  обычно называют «относительной частотой». В нашем примере оно означает, что частота рака желудка у лиц с группой А в  $x$  раз выше, чем у лиц с группой 0. Значимость отклонения  $x$  от 1 можно тестировать следующим образом:

$$V = \frac{1}{w} = \frac{1}{A(\text{Pat})} + \frac{1}{0(\text{Pat})} + \frac{1}{A(\text{Contr})} + \frac{1}{0(\text{Contr})},$$

$\chi^2$  отклонения =  $y^2 w$  (с одной степенью свободы). Несколько оценок  $x$  можно объединить в

общую оценку:

$$Y = \frac{\sum w y}{\sum w} \quad Y = \ln X;$$

$\chi^2$  отклонения =  $Y^2 \sum w$  (с одной степенью свободы),  $\chi^2$  гетерогенности =  $\sum w y^2 - Y^2 \sum w$  (число степеней свободы = числу единичных сравнений - 1).

Стандартное отклонение  $Y$ :  $\sigma = \frac{1}{\sqrt{\sum w}}$ .

*Поток исследований и их результаты* [211, 145]. Приблизительно за 15 лет был выявлен ряд ассоциаций для широко распространенных заболеваний (табл. 3.23). Помимо рака желудка, который исследовали по крайней мере в 101 выборке, еще для нескольких злокачественных новообразований было показано, что риск оказаться пораженным был несколько выше для больных с группой крови А. Такая же тенденция была установлена для ряда неопухолевых заболеваний, в частности для ревматических, пернициозной анемии и в очень большой степени для тромботических и тромбоэмболических заболеваний. С другой стороны, ассоциация с группой 0 была установлена для язвенной болезни двенадцатиперстной кишки. Эти данные показывают, что группа крови А определяет хотя и малый, но значимый вклад в предположение ее носителей к некоторым тяжелым заболеваниям, тогда как среди здоровых стариков по сравнению с общей популяцией чаще следует ожидать носителей группы 0. Такой вывод был подтвержден в исследовании лиц старше 70 лет, которые на момент обследования обладали все еще завидным здоровьем. Различия было особенно сильным, когда контрольная выборка состояла из пожилых людей, подвергавшихся хирургическим операциям [728].

*Возможные смещения.* В широкомасштабных статистических исследованиях возможны определенные смещения.

1. Выбор подходящего контроля. Распределение популяций людей по группам крови неравномерно. Несмотря на соответствие данных ожидаемым пропорциям Харди—Вайнберга, популяция может случайно подразделяться на группы с разными

частотами изучаемых генов. Если контроль взят из другой, нежели больные, группы, то в результате можно установить ложную ассоциацию. Например, если группа крови 0 «дарует» особо хорошее здоровье ее обладателям, то в выборках доноров, среди которых с большей вероятностью можно ожидать лиц с хорошим здоровьем, частота аллеля 0 может оказаться слишком высокой.

2. Публикация только положительных результатов. Вполне понятно желание исследователей вознаградить себя «положительными» результатами, т. е. в нашем случае открытием ассоциации. Вот почему свои данные скорее всего опубликуют только те, кто нашел (возможно, случайно) значимую ассоциацию. Исследователи, которые оказались менее «удачливыми», могут не публиковать свои данные. Таким образом, накопление положительных публикаций ведет к ложной ассоциации.

Было показано, что перечисленные смещения отсутствуют в случае установленных ассоциаций [211]. Успокаивает также то обстоятельство, что данные, собранные для многих других заболеваний, дают отрицательные результаты, хотя и в этих случаях выборки больных и контрольных индивидов собирались сходным образом, а вычисления проводились так, что, если и были смещения, то одинаковые. Примером могут служить врожденные пороки. Целая группа заболеваний, включающая врожденный порок сердца, расщепление губы и неба, поражение почек и мочевой системы, гидроцефалию и другие, не обнаружила никаких ассоциаций с группами крови, хотя было обследовано 4762 больных и 156716 контрольных лиц [211].

*Неудачная попытка найти механизм ассоциации.* В первые годы исследований ассоциаций групп крови и заболеваний многие авторы пытались спекулировать на биологических причинах ассоциаций и отводили эту роль веществам групп крови, например, в секретах желудка и двенадцатиперстной кишки. Более общая гипотеза пыталась объяснить ассоциации более сильным иммунным ответом носителей группы крови 0 по сравнению с носителями группы крови

Таблица 3.23. Значимые ассоциации между группами крови и инфекционными заболеваниями

Диагноз	Количество выборок	Число индивидов		Сравнение	X	$\chi^2$ для X (df = 1)	Значи- мость	$\chi^2$ для гете- рогенности		df
		в вы- борке больных	в конт- рольной выборке							
<i>Новообразова- ния пищева- го тракта</i>										
Рак желудка	101	55 434	1 852 288	A : 0	1,2238	386,267	в)	2 178,127	100	в)
Рак толстой и прямой кишки	17	7 435	183 286	A : 0	1,1099	13,790	в)	10,163	16	
<i>Злокачествен- ные опухоли слюнных желез</i>										
Рак подже- лудочной железы	2	285	12 968	A : 0	1,6432	13,008	в)	14,515	1	в)
Рак рта и глотки	13	817	108 408	A : 0	1,2359	7,549	б)	15,048	12	
Рак рта и глотки	2	757	41 098	A : 0	1,2478	7,703	б)	1,084	1	
<i>Другие ново- образования</i>										
Рак шейки матки	19	11 927	197 577	A : 0	1,1334	30,959	в)	29,362	18	а)
Рак тела матки	14	2 598	160 602	A : 0	1,1515	10,163	в)	17,511	13	
Рак яичников	17	2 326	243 914	A : 0	1,2789	26,630	в)	19,362	15	
Рак молоч- ной желе- зы	24	9 503	355 281	A : 0	1,0827	11,183	в)	31,042	23	
Множествен- ные пер- вичные раки	2	433	7 823	A : 0	1,4340	10,401	в)	1,396	1	
<i>Доброкачест- венные опухоли</i>										
Доброка- чествен- ные опу- холи слюн- ных желез	2	581	12 968	A : 0	2,0153	54,874	в)	23,183	1	б)
<i>Другие внут- ренние болезни</i>										
Язва двенад- цатиперст- ной кишки	44	26 039	407 518	$\begin{cases} 0:A & 1,3492 & 394,710 & \text{в)} \\ 0:A + B + AB & 1,3344 & 447,196 & \text{в)} \end{cases}$	80,977	43	б)			
Язва желуд- ка	41	22 052	448 354	$\begin{cases} 0:A & 1,1694 & 95,933 & \text{в)} \\ 0:A + B + AB & 1,1774 & 125,107 & \text{в)} \end{cases}$	78,964	40	б)			
Язвы одно- временно двенадца- типерст- ной кишки и желудка	6	957	120 544	$\begin{cases} 0:A & 1,5291 & 26,973 & \text{в)} \\ 0:A + B + AB & 1,3561 & 18,722 & \text{в)} \end{cases}$	62,978 19,453 24,120	40 5 5	а) б) б)			



Диагноз	Количество выборок	Число индивидов		Сравнение	X	$\chi^2$ для X (df = 1)	Значи- мость	$\chi^2$ для гете- рогенности	
		в вы- борке больных	в конт- рольной выборке						
Язвенная бо- лезнь в це- лом	11	4 199	88 239	$\begin{cases} 0:A & 1,1462 \\ 0:A + B + AB & 1,1765 \end{cases}$	14,864	в)	8,833	10	10
Кровоточа- щие язвы желудка и двенадцати- перстной кишки	2	1 869	28 325	$\begin{cases} 0:A & 1,4640 \\ 0:A + B + AB & 1,5076 \end{cases}$	52,973	в)	0,457	1	1
Ревматиче- ские забо- левания	17	6 589	179 385	$\begin{cases} A:0 & 1,2350 \\ A + B + AB:0 & 1,2341 \end{cases}$	49,765	в)	28,575	16	16 б)
Пернициоз- ная анемия	13	2 077	119 989	A:0	1,2453	в)	11,904	12	
Диабет	20	15 778	612 819	$\begin{cases} A:0 & 1,0710 \\ A + B + AB:0 & 1,0721 \end{cases}$	13,719	в)	37,543	19 б)	19 б)
Ишемиче- ская бо- лезнь сердца	12	2 763	218 727	$\begin{cases} A:0 & 1,1817 \\ A + B + AB:0 & 1,1743 \end{cases}$	13,906	в)	22,808	11 б)	11 б)
Холцистит и желчно- каменная болезнь	10	5 950	112 928	A:0	1,1734	в)	9,637	9	
Эозинофи- лия	3	730	1 096	$\begin{cases} A:0 & 2,3792 \\ A + B + AB:0 & 2,1315 \end{cases}$	45,757	в)	0,597	2	2
Тромбо- эмболиче- ские забо- левания	5	1 026	287 246	$\begin{cases} A:0 & 1,6135 \\ A + B + AB:0 & 1,6040 \end{cases}$	45,500	в)	23,364	4 в)	4 в)

а) –  $P \leq 0,05$ ; б) –  $P \leq 0,01$ ; в) –  $P \leq 0,0027$ ; если различие незначимо, то буква не ставится.

А. Эта гипотеза стимулировала популяционно-генетические исследования, но экспериментальная ее проверка для таких широко распространенных заболеваний, как язва двенадцатиперстной кишки и рак желудка (разд. 6.2.1.8), не была проведена. Чтобы понять механизм ассоциаций, необходимо более детальное знание роли клеточной поверхности, особенно ее гликопротеинов, во взаимодействии с другими клетками и со средой. Тот факт, что до сих пор все попытки продемонстрировать убедительный механизм ассоциаций остались безуспешными, принес разочарование многим ученым. В последние годы поток работ по ассоциациям групп крови с заболеваниями почти полностью иссяк.

Стало ясно также, что общий вклад генов ABO в генетическую этиологию этих болезней, вероятно, мал, как показано, например, при изучении язвенной болезни [637]. Таким образом, результаты этих исследований, хотя и являются статистически значимыми, в частности, в случае язвенной болезни, рака желудка и некоторых других заболеваний, но они мало что прибавляют к пониманию генетических и средовых причин этих форм патологии.

### 3.7.2.2. Kell-система

*Мутации системы Kell, акантоцитоз и хронический гранулоцитоз.* Помимо ассоциаций ряда заболеваний с распространенными группами крови известны некоторые примеры наследственных аномалий, связанных с редкими генами или с генами-модификаторами генов «групп крови». В разделе 3.1.7 мы упоминали гены-модификаторы системы групп крови ABO, они известны лучше других и не влияют существенно на здоровье своих носителей. Примером прямой ассоциации между аллелями редкой группы крови и заболеванием может служить система групп крови Kell. Она особенно интересна, поскольку известно, что «вещество» Kell включено в структуру клеточных мембран. Для более глубокого понимания природы других ассоциаций заболеваний крови и, например, системы HLA важно знать мембранные функции, а для этого особенно полезными могут оказаться именно такие редкие аллели, как Kell.

В популяциях европейского происхождения обнаруживаются два аллеля аутосомного локуса Kell: K и k. более редкий из них K имеет частоту

0,05. С другой стороны, у 14–20% американских негров найден аллель Kell-системы Js, крайне редкий в других популяциях. Этот аллель служит превосходным маркером для лиц африканского происхождения. Гемолитическая анемия новорожденных редко вызывается анти-Kell антителами, но когда это случается, основной механизм сходен с таковым при резус-конflikте.

Кроме аутосомного локуса антигена Kell идентифицирован X-сцепленный локус, который кодирует вещество-предшественник Kell, известное как Kx. В норме все люди имеют Kx-антигенную детерминанту как на эритроцитах, так и на лейкоцитах. Некоторые индивиды гомозиготны по нулевому («немому») аллелю (Ko) [609] того же локуса Kell. В этом случае нет обычных антигенов Kell, но можно выявить сильную Kx-реакцию [777]. Данный результат не противоречит предположению о том, что нормальная Kx-детерминанта, контролируемая X-сцепленным локусом, является единственной связанной с Kell-антигеном у гомозиготных носителей Ko (или немого) аллеля. Такие лица клинически и гематологически нормальны. Были идентифицированы мутации по локусу Kx, которые проявляются или в эритроцитах, или в лейкоцитах, или в обоих типах клеток [776].

Маклеодовский фенотип эритроцитов [957] обусловлен X-сцепленной рецессивной мутацией, вызывающей отсутствие Kx-детерминанты. Это приводит к аномалии мембраны эритроцитов – акантоцитозу («колючие» эритроциты) и их разрушению. Тяжесть гемолита может меняться от компенсируемого разрушения небольшого числа клеток до тяжелой гемолитической анемии [776]. А-β-липопротеинемия [592] – обычная причина акантоцитоза (14595) – в этих случаях отсутствует. Ясно, что аномалии эритроцитов вызваны отсутствием Kx-антигенов, поскольку клетки, в которых отсутствуют все Kell-антигены, за исключением Kx (Ko), морфологически нормальны. Так как речь идет об X-сцепленном рецессивном признаке, экспрессия маклеодовского фенотипа выявляется только у мужчин.

Матери мужчин с маклеодовским (т.е. мутантным Kx-фенотипом) гетерозиготны как по нормальному Kx(+), так и по мутантному Kx(–)-аллелю. В соответствии с принципом инактивации X-хромосомы (разд. 2.2.3.3) такие гетерозиготные женщины должны быть функциональными мозаиками, у которых в части клеток экспрессируется нормальный Kx(+), а в других – мутантный Kx(–)-аллель. Действительно, в популяции эритроцитов у них обнаруживаются и нормальные, и аномальные клетки [890]. Такой мозаицизм можно продемонстрировать с помощью иммунологических и морфологических методов, поскольку Kx(–)-клетки являются

акантоцитами. Нормальные клетки превышают по численности аномальные, что объясняется укорочением жизни Кх (—) эритроцитов по сравнению с Кх (+)-клетками. Х-сцепленная Кх-де-терминанта предположительно связана с мембранным белком, мутации в этом локусе приводят к патологическим мембранным перестройкам, что вызывает морфологические аномалии эритроцитов и гемолиз.

Эффекты мутаций, нарушающих Кх-антигены, часто проявляются и в лейкоцитах. Например, у нескольких мальчиков с хроническим грануломатозом (CGD) были идентифицированы Kell-типы [682]. Позже было показано, что это тоже мутации Кх-локуса. Больные с CGD характеризуются повышенной восприимчивостью к относительно слабым бактериальным патогенам. Развитие болезни выражается в инфекционном поражении кожи, лимфатических узлов и легких, часто наблюдаются лимфаденопатия, гепатоспленомегалия и гипергаммаглобулинемия. Еще до выявления ассоциации с группой крови Kell было установлено, что во многих случаях это Х-сцепленная аномалия. Лейкоциты при этом заболевании обнаруживают снижение способности убивать многие бактерии, но фагоцитарная и лизосомальная активности сохраняются [715]. Истинная связь мутантного Кх-гена с пониженной бактерицидной активностью лейкоцитов еще не выяснена, но возможно, что Кх-мембранный антиген вовлечен в активацию NADH-дегидрогеназы, необходимой для проявления бактерицидной активности [776]. Все другие лейкоцитарные антигены нормальные. У некоторых больных с грануломатозом было снижено содержание Кх-вещества как в лейкоцитах, так и в эритроцитах. В этих случаях наряду с грануломатозом обнаруживались акантоцитоз и гемолиз [776]. Большинство больных с Кх-ассоциированным CGD имели нормальные эритроциты, хотя выявлено несколько больных с Х-сцепленным акантоцитозом (макLeodовский фенотип) и нормальными лейкоцитами. Известно по крайней мере шесть Х-сцепленных и три аутосомно-рецессивных типа CGD. При этом обнаруживаются разные ферментативные дефекты: нарушение инициации окислительного фосфорилирования, дефекты в обеспечении NADPH и недостаточность цитохрома *b*. Таким образом, описанный синдром весьма гетерогенен, а Кх-недостаточность является лишь одним из нескольких типов [714].

### 3.7.3. Система HLA и заболевания [888, 207a]

Как уже говорилось (разд. 3.5.5), локусы главного комплекса гистосовместимости (МНС) расположены в хромосоме 6 человека и гомологичны генам комплекса H2 мыши [113]. Иммунизация инбредных линий мышей разными, явно неродственными антигенами (синтетическими полипептидами, сывороточными белками, антигенами клеточных поверхностей) индуцирует высокие уровни антител в одних линиях и низкие уровни (или отсутствие ответа) в других. Количество индуцированных антител контролируется локусами иммунного ответа (I $\alpha$ ), которые являются частью комплекса H2. Заражение мышей вирусом лейкемии вызывает рак, более легкий в одних линиях, чем в других [766]. Эти различия контролируются генами, которые, подобно генам I $\alpha$ , относятся к комплексу H2 [741; 740; 765; 783]. Позже было продемонстрировано сцепление комплекса H2 с генетическими факторами предрасположения к аутоиммунному тиреоидиту мышей [859] и восприимчивости к лимфоцитарному вирусу хориоменингита.

В случаях устойчивости к лейкемогенезу и восприимчивости к инфекции вирусом хориоменингита не удалось обнаружить какие-либо специфические антитела. Однако иммунный ответ обнаружен в случае тиреоидита. Здесь удалось установить связь между конкретным типом антигена трансплантации, наличием специфических анти-тироглобулиновых антител и тяжестью болезни. Это было важным шагом на пути к выяснению механизма ассоциации. (Между прочим, можно упомянуть, что у человека была описана ассоциация между аутоиммунным тиреоидитом и антигеном HLA-B8.)

Эти результаты свидетельствовали о том, что у человека гены иммунного ответа могут быть тесно сцеплены с HLA-генами. Поскольку для хорошо изученных генов системы HLA у человека было продемонстрировано неравновесие по сцеплению, наличие этого же свойства можно предположить и для гипотетических генов иммунного ответа. Следовательно, ассоциации забо-

лений с антигенами системы HLA, вообще говоря, можно было предвидеть.

Первой аномалией у человека, проанализированной с этой точки зрения, была болезнь Ходжкина – злокачественное новообразование лимфатической системы. Обследование 523 больных обнаружило значимую ассоциацию с HLA-I. Исследования при других злокачественных новообразованиях, в частности при острой лимфатической миелогенной лейкемии, дали противоречивые результаты. Более сильные ассоциации были найдены для ряда незлокачественных заболеваний, в частности для анкилозирующего спондилита, спру, болезни Рейтера, множественного склероза и псориаза (табл. 3.24). В некоторых случаях степень ассоциаций была огромной. Для анкилозирующего спондилита, например, коэффициент X (разд. 3.7.2) оказался равным 87, т.е. болезнь была в 87 раз вероятнее у носителей HLA-типа B27, чем в общей популяции.

Хотя почти все больные анкилозирующим спондилитом имели антиген HLA-B27, у большинства носителей этого антигена не было данного заболевания. Частота HLA-B27 в популяции белых в США составляет около 5%, а частота анкилозирующего спондилита – 1/2000. Однако тщательные клинические и рентгенологические исследования показали, что у 20% носителей B27 обнаруживаются незначительные клинические и рентгенографические признаки, свидетельствующие о наличии легкой формы анкилозирующего спондилита [48].

Сравнение ассоциаций аллелей системы антигенов HLA и групп крови ABO с теми или иными заболеваниями выявляет некоторые различия. HLA-ассоциации, как правило, намного сильнее. Для большинства ассоциаций с группами крови ABO характерно, что относительные частоты среди больных превышают частоты в контрольных группах не более чем вдвое, тогда как для HLA-ассоциаций эти частоты обычно намного выше. Однако очень высокая predisположенность носителей антигена HLA-B27 к анкилозирующему спондилиту была исключением, для большинства ассоциаций эти частоты значительно ниже. Таким образом, имеющиеся данные свидетельствуют

о том, что вклад HLA-антигенов в мультифакториальные системы, вызывающие указанные выше заболевания, значительнее, чем вклад антигенов ABO при тех заболеваниях, с которыми они обнаруживают ассоциацию. Следовательно, попытки вскрыть механизм HLA-ассоциаций имеют больше шансов на успех.

*Существуют ли на самом деле HLA-сцепленные гены иммунного ответа у человека? И каков способ их действия?* Важная роль, которая принадлежит HLA-антигенам в иммунном ответе (разд. 3.5.5, [623]), предполагает наличие генетической изменчивости иммунного ответа, зависящей от различных HLA-типов. Что касается истинной природы этой зависимости, то для ее объяснения можно предложить по крайней мере пять механизмов.

1. HLA-антигены на поверхности клетки могут действовать как рецептор для вируса или другого патогенного агента. Эту возможность следует проверить, особенно если ассоциация столь же сильная, как при анкилозирующем спондилите.

2. Вторая возможность – перекрестные реакции HLA-антигенов с вирусными или бактериальными антигенами, что приводит либо к более слабому иммунному ответу вследствие иммунологической толерантности, либо к более сильному ответу на чужеродный антиген. Эти механизмы обсуждались для ассоциаций между группами крови и инфекционными заболеваниями и будут описаны позже в контексте естественного отбора (разд. 6.2.1).

3. Ассоциация может возникать вследствие неравновесия по сцеплению с антигеном HLA из этого же или других HLA-локусов. Было показано, например, что ассоциации с аутоиммунными заболеваниями могут быть связаны главным образом (или исключительно) с локусом HLA-D/DR. Однако аллели этого локуса обнаруживают неравновесие по сцеплению с аллелями локуса В. Это может вызвать более слабую ассоциацию с антигенами локуса В. Например, была найдена ассоциация между юношеской формой сахарного диабета (аутоиммунная форма) и HLA-B8. Однако, когда дополнительно проанализировали локус D,

Таблица 3.24. Ассоциации между HLA и некоторыми болезнями (ср. с *Svejgaard et al.*, 1983 [888])

Признак	HLA	Частота (%)		Относительный риск
		Больные	Контроль	
Болезнь Ходжкина	A1	40	32,0	1,4
Идиопатический гемохроматоз	A3	76	28,2	8,2
	B14	16	3,8	4,7
Болезнь Бехчета	B5	41	10,1	6,3
Врожденная гиперплазия надпочечников	Bw47	9	0,6	15,4
Анкилозирующий спондилит	B27	90	9,4	87,4
Болезнь Рейтера	B27	79	9,4	37,0
Острый передний увеит	B27	52	9,4	10,4
Подострый тиреоидит	Bw35	70	14,6	13,7
Псориаз	Cw6	87	33,1	13,3
Герпетиформный дерматит	D/DR3	85	26,3	15,4
Детская спру	D/DR3	79	26,3	10,8
	D/DR7	также возрастает		
Синдром Сикка	D/DR3	78	26,3	9,7
Идиопатическая болезнь Аддисона	D/DR3	69	26,3	6,3
Болезнь Грейвса	D/DR3	56	26,3	3,7
Инсулин-зависимый диабет	D/DR3	56	28,2	3,3
	D/DR4	75	32,2	6,4
	D/DR2	10	30,5	0,2
Миастения гравис	D/DR3	50	28,2	2,5
	B8	47	24,6	2,7
Системная красная волчанка (SLE)	D/DR3	70	28,2	5,8
Идиопатическая мембранная нефропатия	D/DR3	75	20,0	12,0
Множественный склероз	D/DR2	59	25,8	4,1
Воспаление зрительного нерва	D/DR2	46	25,8	2,4
Синдром Гудпастера	D/DR2	88	32,0	15,9
Ревматоидный артрит	D/DR4	50	19,4	4,2
Пузырчатка (у свреев)	D/DR4	87	32,1	14,4
IgA-нефропатия	D/DR4	49	19,5	4,0
Гидралазин-индуцированный SLE	D/DR4	73	32,7	5,6
Тиреоидит Хашимото	D/DR5	19	6,9	3,2
Пернициозная анемия	D/DR5	25	5,8	5,4
Юношеский ревматоидный артрит				
преимущественное поражение мелких суставов	D/DR5	50	16,2	5,2
все случаи	D/DRw8	23	7,5	3,6

аллель D3 обнаружил намного более сильную ассоциацию с диабетом того же типа и, кроме того, D3 ассоциировался с аллелем B8 вследствие неравновесия по сцеплению. Следовательно, ассоциация диабета с аллелем B8, очевидно, была вызвана ассоциацией диабета с аллелем D3 и неравновесием по сцеплению.

4. Ассоциация вследствие неравновесия по сцеплению может иметь место также и в

том случае, если редкая мутация повреждает ген, тесно сцепленный с локусами MHC, но функционально с этой системой несвязанный.

5. Пятая и наиболее вероятная возможность – это гипотеза о том, что гены иммунного ответа (Ir) тесно сцеплены с генами комплекса HLA, причем между ними существует сильное неравновесие по сцеплению. Сильным аргументом в пользу этой

концепции могут служить обсуждавшиеся выше аналогичные результаты у мыши.

Эта гипотеза вовсе не исключает идею о том, что HLA (или Ir) антигены на поверхности клетки могут действовать как рецепторы для патогенных агентов. Эту концепцию можно проверить непосредственно с помощью семейных исследований двух типов. Обнаружение одновременно заболевания и одинаковых HLA-антигенов у пораженных членов одной семьи совместимо с гипотезой о вирусных рецепторах и с гипотезой о кросс-реакциях с микробными антигенами, а также с гипотезой тесно сцепленных генов иммунного ответа. Комбинация Ir-аллелей в *транс*-положении с HLA-аллелями, которые обычно ассоциируют с ними вследствие неравновесия по сцеплению, означала бы наличие семей, в которых ни один из заболевших не обнаружил бы гаплотипов с антигеном, обычно ассоциирующим с болезнью. Такие семьи и в самом деле наблюдались. Однако при неравновесии по сцеплению в большинстве семей с пораженными маркерный ген системы HLA и ген болезни будут находиться в *цис*-положении, а в меньшей части семей – в *транс*-положении. Следовательно, для семей, несущих этот ген в *транс*-положении, предсказание на основе гипотезы Ir-локуса противоречило бы предсказаниям на основе других гипотез.

Если ассоциация Ir-антигенов с болезнью является следствием тесного сцепления с Ir-генами, то возможно также, что в одной популяции последние сцеплены предпочтительно с одним из аллелей HLA-системы, а в других популяциях – с иными аллелями этой системы. Следовательно, исследования HLA-ассоциаций с заболеваниями, особенно если они проводятся в разных расовых популяциях, могут привести к противоположным результатам.

Ассоциация определенной болезни аллелями системы HLA, может пролить свет на патогенез этой болезни. Например, при множественном склерозе иммунологические исследования причин HLA-ассоциаций обнаружили специфически сниженный клеточный иммунитет к кори и другим парамиксовирусам [662, 689]. Множественный склероз ассоциирует с HLA-B7. Этот

же антиген обнаруживает ассоциацию с лептотомозной проказой (тип проказной инфекции с особенно слабым ответом Т-лимфоцитов и, следовательно, слабым клеточным иммунитетом [668]). Полученные результаты привели к заключению, что носители антигена B7 могли быть «слабыми ответчиками», т.е. их Т-лимфоцитам требуется больше времени, чтобы ответить клеточной пролиферацией на определенные антигенные стимулы. Это может помочь раскрытию механизмов HLA-ассоциаций с заболеваниями.

Предварительный вывод таков: множественный склероз может вызываться медленной вирусной инфекцией, первично поражающей лиц, предрасположенных к ней вследствие (сцепленного с HLA) аномального иммунного ответа. Тот факт, что юношеская форма диабета обнаруживает ассоциацию с HLA-антигенами, а взрослая – нет, подтверждает точку зрения относительно разной этиологии этих форм диабета, а также то, что юношеский диабет может иметь аутоиммунную или вирусную этиологию. Об этом же свидетельствует намного меньшая конкордантность идентичных близнецов в случае юношеского диабета по сравнению с близнецовыми данными при взрослой форме диабета [906] (разд. 3.8.14).

Результаты совсем недавних исследований позволяют говорить о двух типах юношеского сахарного диабета: один тип ассоциирует с HLA-D3 (или B8) и развивается, по-видимому, по аутоиммунному механизму, а другой ассоциирует с D4, причем больные этой формой часто отвечают на введение экзогенного инсулина выработкой антител. Следовательно, анализ HLA-ассоциаций может способствовать важному уточнению нозологической классификации в пределах группы сходных заболеваний и, кроме того, может помочь в выявлении генетической гетерогенности в этой группе.

Некоторые гипотезы, касающиеся функциональной значимости всего MHC района в хромосоме 6, обсуждались в разд. 3.5.5. Этот хромосомный район содержит крупный кластер тесно сцепленных генов – все с

близкородственными функциями. Изучение ассоциаций этих генов с заболеваниями поможет пролить свет не только на этиологию определенных болезней, но и на механизмы ряда важных функций в норме.

*Сцепление и ассоциация.* Необходимо тщательно разграничивать сцепление и ассоциации. Сцепление относится к двум генам, расположенным в одной хромосоме на определенном (и определяемом) расстоянии друг от друга. Термин «ассоциация» часто используется в том случае, когда при конкретном заболевании (или при наличии какого-то признака) наблюдается более высокая частота определенного гена-маркера. Ассоциация не подразумевает, что ген болезни и маркерный ген расположены в одной хромосоме. При обсуждении частот HLA-аллелей при разных заболеваниях могут возникнуть недоразумения, касающиеся этих понятий [809]. Мы уже упоминали, что комплекс локализован в хромосоме 6. Тесно сцеплен с этим комплексом ген недостаточности 21-гидроксилазы [633], который в гомозиготном состоянии приводит к врожденной гиперплазии надпочечников (20910). Аналогично с HLA-локусами сцеплен ген одной из форм спиноцеребеллярной атаксии (16440) [725]. Имеющиеся данные по гемохроматозу [болезнь накопления железа (14160), которая наследуется предположительно как аутосомно-рецессивный признак, причем иногда с проявлением у гетерозигот] можно интерпретировать так, что ген этой болезни также сцеплен с HLA-комплексом [872a, 8726, 745]. Все перечисленные болезни являются моногенными, соответствующие гены расположены на определенном, вполне измеримом расстоянии от HLA-комплекса в хромосоме 6. Однако нет оснований считать, что эти заболевания и HLA-комплекс физиологически как-то связаны.

С другой стороны, болезни, с которыми ассоциируют аллели HLA-комплекса, не являются моногенными признаками, а имеют обычно мультифакториальную природу. Для ряда таких заболеваний (хронический гепатит, миастения гравис, ревматоидный артрит, болезнь Аддисона, тиреотоксикоз, юношеская форма сахарного диабета, дет-

ская спру и множественный склероз) установленные ассоциации касались D/DR-антигенов HLA-системы [623]. Общей характерной чертой при этих заболеваниях является наличие аутоантител, в связи с чем они были классифицированы как аутоиммунные заболевания или по крайней мере как иммуноассоциированные болезни. Семейные исследования показали значимое накопление случаев заболевания среди родственников пробандов, хотя четкое менделевское наследование отсутствовало. Однако относительный риск для носителей DR-антигенов проявить то или иное заболевание в целом невысокий и примерно в 2–8 раз превышает частоту в контрольной популяции (кроме детской формы спру, наблюдавшейся среди этих носителей в 65 раз чаще, чем в контрольной популяции [582]). И здесь уместно использовать объяснения, излагавшиеся выше в случае ассоциаций ряда болезней с другими аллелями HLA-комплекса. Например, можно считать, что ассоциации обусловлены генами иммунного ответа (Ir), тесно сцепленными с D/DR-аллелями, либо эти последние непосредственно вовлечены в механизмы иммунного ответа (через макрофаги Т-клеточной системы). Можно предположить, что на механизм ассоциаций так или иначе влияет вся клеточная поверхность, особенностью которой определяются HLA-D/DR- и Ir-аллелями (а также, вероятно, другими тесно сцепленными генами) [818].

Органоспецифические аутоантитела определяют проявление различных аутоиммунных болезней. Неизвестно, однако, участвуют ли в этом дополнительные гены в других хромосомах. В продукцию аутоантител вовлечены, вероятно, и определенные средовые стимулы, часто вирусного происхождения, как это предполагается, например, в случае диабета, гепатита и множественного склероза. Индивиды с определенными D/DR-аллелями HLA-комплекса в большей степени восприимчивы к формированию антител, чем те, у которых такие гены отсутствуют. Это по крайней мере частично объясняет генетическую восприимчивость к аутоиммунным болезням. Таким образом, будучи ассоциированными, D/DR-гены HLA-комплекса и гены

аутоиммунных заболеваний не являются сцепленными.

### 3.7.4. Полиморфизм $\alpha_1$ -антитрипсина и патология [749, 653]

**Полиморфизм  $\alpha_1$ -антитрипсина (PI).** Группы крови АВО обнаруживают слабую ассоциацию с большим числом заболеваний, но убедительное объяснение этих ассоциаций пока отсутствует. Антигены системы HLA демонстрируют более сильную ассоциацию с меньшим числом заболеваний. Но хотя и в этом случае убедительное биологическое объяснение пока отсутствует, все же обсуждаются вполне разумные и, главное, экспериментально проверяемые гипотезы. Полиморфизм  $\alpha_1$ -антитрипсина ассоциирует у взрослых главным образом с одной болезнью — хронической эмфиземой легких, патогенез которой в определенной степени выяснен.

Антипротеолитическая активность сыворотки человека была установлена Камю и Глеем (1897), а также Ханом (1897). Ландштейнер (1900) показал, что эта активность связана с альбуминовой фракцией. Из шести антипротеаз, идентифицированных в сыворотке человека,  $\alpha_1$ -антитрипсин и  $\alpha_2$ -макроглобулин имеют наибольшие концентрации. Оба этих белка ингибируют большое число протеаз, включая тромбин. Антипротеолитическую активность оценивают путем гидролиза искусственных субстратов трипсином в присутствии тестируемой сыворотки. Существует тесная корреляция между иммунологически измеряемой концентрацией и активностью. Концентрация быстро растет, например, при бактериальной инфекции, после введения противотифозной вакцины или во время беременности. Оказалось, что синтез происходит в печени. Межиндивидуальные различия впервые обнаружены в 1963 г. [755]. Предполагалось, что низкий уровень  $\alpha_1$ -антитрипсина определяется рецессивным геном. Однако с помощью электрофоретических методов и изoeлектрического фокусирования удалось идентифицировать по крайней мере 23 разных фенотипа (рис. 3.70; табл. 3.25). Генетической основой этой гетерогенности служат серии мно-

**Таблица 3.25.** Концентрация  $\alpha_1$ -антитрипсина при разных  $\alpha_1$ -антитрипсиновых фенотипах (Kueppers, 1975 [749])

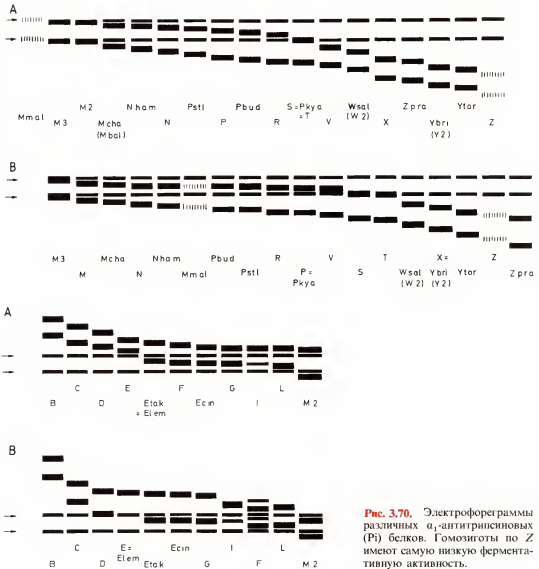
Фенотип	n	Концентрация $\alpha_1$ -антитрипсина (мг/100 мл)	Процент нормальных (MM = 100%)	
			Kueppers	Fagerhol
M/M	21	212	100	100
S/S	2	80; 112		63
Z/Z	10	25	12	
M/S	19	167	79	83
M/Z	17	120	57	61

жественных аллелей. Лocus был назван PI, а различные аллели —  $PI^M$ ,  $PI^Z$  и т. п., фенотипы — M/M, M/Z и т. п. Во всех исследованных до сих пор популяциях наиболее часто встречаются  $PI^M$ -аллели ( $M_1$ ,  $M_2$  и  $M_3$ ): их общая частота составляет 0,9 и выше. Другие, более редкие аллели обозначены буквами. Положение этих букв в алфавите дает приближенную картину электрофоретической мобильности. На рис. 3.70 показана электрофоретическая картина. Анализ нуклеотидной последовательности (разд. 2.3.3.4) клонированной кДНК показал, что, например, Z-вариант обусловлен единичной нуклеотидной заменой [751]. Особенно большое значение имеют варианты Z и S, поскольку именно они определяют существенное снижение уровня  $\alpha_1$ -антитрипсина. В случае другого, более редкого аллеля  $PI^+$  активность этого белка у гомозигот (нулевой аллель) вовсе не обнаружена. Гетерозиготы  $PI^M/PI^+$  имеют фенотип M с концентрацией около 50% от нормы.

Внутривенное введение противотифозной вакцины и диэтилstilbэстрола приводит к 100%-ному увеличению активности у лиц с MM-типом. Гетерозиготы MZ-типа обнаруживают умеренное увеличение, тогда как у гомозигот ZZ вообще трудно выявить какое-либо увеличение активности.

**Ассоциация с хронической эмфиземой легких (ХЭЛ).** Эриксон (1965) [651] выявил 33 гомозиготы ZZ-типа, по крайней мере у 23 из которых были обнаружены симптомы хронической эмфиземы легких.





**Рис. 3.70.** Электрофореграммы различных  $\alpha_1$ -антитрипсиновых (Pi) белков. Гомозиготы по Z имеют самую низкую ферментативную активность.

На основе семейных данных Эрикссон показал, что эмфизема легких в 15 раз чаще встречается среди этих гомозигот, чем в общей популяции. Это наблюдение было подтверждено многими исследователями на большом числе больных. В одной группе из 295 больных с этим диагнозом было выявлено 20 гомозигот  $PI^Z$ , т.е. меньше ожидаемого, исходя из частоты гена. Чаще всего первые симптомы заболевания рас-

познаются в третьем или четвертом десятилетии жизни. При обычной форме хронической эмфиземы легких заболевание полностью проявляется, как правило, после 50 или 60 лет. Для этой формы характерна атрофия легочной ткани и кровеносных сосудов в нижних долях. Достаточно интересно, что еще до того, как был открыт дефект  $\alpha_1$ -антитрипсина, среди больных хронической эмфиземой легких, врачи вы-

деляли особую группу больных с такими симптомами. Широко обсуждался вопрос, часто ли у гетерозигот проявляется ХЭЛ. Высказывалось мнение, что гетерозиготы имеют лишь трехкратный риск развития ХЭЛ по сравнению с М-гомозиготами [653]. Тесты на легочные функции обнаружили у гетерозигот более высокую частоту ряда нарушений и тенденцию к относительно позднему проявлению этих нарушений.

Хроническая эмфизема развивается только у 70–80% гомозигот, а среди гетерозигот частота намного ниже. На проявление заболевания оказывают влияние средовые факторы:  $\alpha_1$ -антитрипсин ингибирует также протеолитические ферменты, освобождаемые гранулоцитами и макрофагами. Поэтому возможно, что эти ферменты, (они обычно высвобождаются при воспалительных процессах) в случае хронической эмфиземы недостаточно инактивированы. Если больной страдает повторными бронхитами вследствие, например, курения или частых инфекций, протеолитические ферменты будут вызывать аутолитические повреждения легких. Курение повышает опасность бронхиальных инфекций и способствует прогрессированию болезни [653]. Следовательно, Z/Z-гомозиготам и гетерозиготам следует воздерживаться от курения и избегать производств, связанных с раздражениями бронхов. Бронхиты необходимо лечить на ранней стадии и интенсивно. «Если мы сможем отучить индивидов с генотипом  $PI^Z$  от курения, то мы продлим жизнь каждому из них на 15 лет» [653].

Другая болезнь, которая ассоциирует с низкими уровнями  $\alpha_1$ -антитрипсина у гомозигот, — детская форма цирроза печени. Эта ассоциация твердо установлена, но наблюдается реже, чем в случае хронической эмфиземы легких. Цирроз печени у взрослых также чаще распространен среди гомозигот ZZ.

*Значение новых исследовательских стратегий.* Полиморфизм  $\alpha_1$ -антитрипсина интересен тем, что связанный с ним механизм разрушения легких можно объяснить. Этот случай явно контрастирует с ассоциациями, описанными для антигенов ABO и даже для

системы HLA. В данном случае ситуация проще: носители одного из генотипов поражаются не всегда, но очень часто, и сама болезнь довольно специфическая, поскольку она была идентифицирована прежде, чем стала известна ее биохимическая причина. Статус Z/Z также можно рассматривать как рецессивную болезнь с «неполной пенетрантностью». Вероятно, множество других таких моногенно-рецессивных вариантов еще скрыто внутри больших групп мультифакториальных заболеваний: либо потому, что трудно идентифицировать фенотип, либо потому что учтены еще не все проявления патологии.

Влияние аллеля  $PI^Z$  на подверженность гетерозигот заболеванию, по-видимому, очень сходно с ситуацией в случаях ABO- и HLA-антигенных систем. Тяжелая форма хронической эмфиземы легких проявляется относительно редко, но клинически она сходна с более частой формой, осложняющей хронические бронхиты, т.е. дополнительные средовые и генетические факторы вносят в общую подверженность при этом заболевании, по-видимому, немалый вклад.

Пример описанной ассоциации с наибольшей ясностью иллюстрирует недавно разработанную «непрямую» исследовательскую стратегию. Сначала на генетическом уровне идентифицируется генетический полиморфизм. Затем продукт конкретного гена определяется с помощью биохимических методов. Далее осуществляют поиск возможного влияния полиморфизма на экспрессию гена. В обсуждавшемся выше случае имела место недостаточность белка, т.е. низкая ферментативная активность, вследствие чего организм inadeкватно отвечает на такие воздействия среды, как инфекция. Эта специфическая функциональная недостаточность приводит к заболеванию, особенно при наличии повышенной подверженности к раздражению слизистой бронхов вследствие средовых воздействий.

Подобная стратегия исследований будет, вероятно, полезной в генетическом анализе и других заболеваний и признаков, при которых взаимосвязи генотипа и фенотипа настолько сложны, что исключают прямой путь с помощью менделевских ме-

тодов. В таких случаях приходится надеяться лишь на методы генетики количественных признаков.

*Ассоциации заболеваний с другими полиморфизмами* [145]. Помимо описанных выше трех основных примеров ассоциаций были исследованы (и в ряде случаев достаточно успешно) другие примеры ассоциирующих полиморфизмов, включая другие системы групп крови [211], гаптоглобины и ощущение вкуса фенилтиомочевины (ФТМ). Некоторые из них будут описаны в разделе, посвященном популяционной генетике (разд. 6.1.2). Особый интерес представляют ассоциации между полиморфизмом аполипопротеина Е и атеросклерозом [916, 917] (разд. 3.13), а также вариантами третьей компоненты комплекса и некоторыми заболеваниями: аллель  $C3^F$ , по-видимому, ассоциирует с ревматоидным артритом [590; 591; 657], гепатитом [657] и силой иммунного ответа. Недостаточность компонента  $C6$  была обнаружена примерно у половины больных менингококковым менингитом. Если все эти ассоциации подтвердятся, то они будут представлять значительный интерес, потому что в этих случаях можно обсуждать вероятные гипотезы относительно биологических механизмов и генетических последствий.

### 3.8. Концепция: природа – воспитание. Близнецовый метод

При обсуждении методов количественной генетики часто ссылаются на близнецовые данные, используемые для количественной оценки степени генетической детерминации отдельных признаков. Действительно, близнецовые исследования сыграли важную роль в истории генетики человека. Одно время близнецовый метод рассматривался даже как своеобразная «королевская дорога» в генетическом анализе у человека. В такой важной области, как генетика поведения, многие наши выводы основываются именно на близнецовых данных. Вот почему так важно критически оценить близнецовый метод, проанализировать его возможности и ограничения.

#### 3.8.1. Исторические замечания

Открытие близнецового метода обычно приписывают Гальтону (1876) [675], который, следуя Шекспиру (осознанно или неосознанно), ввел альтернативные понятия

«природа» и «воспитание». (В пьесе «Буря» Просперо говорит Калибану: «Рожденный дьяволом – сам дьявол, и воспитанием его природу не исправишь»<sup>1</sup>. Усомнимся, однако, в том, что Гальтон понимал суть этой проблемы. Весма вероятно, что он не знал о существовании двух типов близнецов – монозиготных и дизиготных. О различии близнецов незадолго до этого (в 1874 г.) сообщил антропологическому обществу Даресте [927]. Более вероятно, что у Гальтона не было ясной концепции близнецового метода и что правильную идею он сформулировал интуитивно.

В 1914 г. Пол [841] постарался использовать близнецовый метод для оценки генетической детерминации, однако надежные методы диагностики типа зиготности в то время отсутствовали, и его постигла неудача. Такие попытки предпринимались и после Пола, но диагностика зиготности оставалась сомнительной.

Прочный фундамент для близнецового метода был заложен в работах Сименса (1924) [869]. Его достижения охватывают три направления.

1. Он показал, что близнецовые выборки статистически приемлемого объема можно легко найти в школах. Благодаря этому стало возможным изучение генетики нормальной изменчивости.

2. Он разработал надежный метод диагностики зиготности. До него исследователи пытались определить тип близнецов по какому-либо одному признаку. Сименс показал, что надежная идентификация типа зиготности возможна только на основании большого числа критериев. Каждый из них в отдельности выявляет в монозиготных парах не намного большее сходство, чем в дизиготных парах, однако взятые все вместе они надежно разделяют обе группы близнецов.

3. Сименс предложил исследовать не только монозиготные (МЗ), но и дизиготные (ДЗ) пары близнецов. ДЗ близнецы генетически сходны не больше чем другие сибсы: в среднем 50% их генов являются общими по происхождению, однако, подобно МЗ близнецам, они рождаются одно-

временно и развиваются в сходных условиях среды.

### 3.8.2. Исходная концепция

В основе близнецового метода лежит тот факт, что МЗ близнецы развиваются из одной зиготы. Отсюда следует, что генетически они должны быть идентичными. (Группу генетически идентичных особей называют клоном.) Фенотипические различия между МЗ близнецами объясняются средовыми причинами. Здесь среда понимается в самом широком смысле: все, что не связано с генами.

Следовательно, чтобы определить, детерминирован ли признак генетическими факторами и в какой мере его изменчивость может быть модифицирована средой, необходимо измерить степень сходства МЗ близнецов. Поскольку считается, что ДЗ близнецы так же, как монозиготные, развиваются в одинаковых условиях, но имеют лишь половину общих по происхождению генов, их используют в качестве подходящего контроля.

Ниже мы покажем, как эту концепцию можно перевести на количественную основу, а также обсудим ее ограничения.

### 3.8.3. Биология близнецовости

**Дизиготные близнецы.** Большинство млекопитающих (грызуны, хищники, некоторые копытные) имеет многочисленный помет. Во время овуляции яйцники выделяют одновременно несколько яйцеклеток, каждая из которых может быть оплодотворена одним спермием. У мартишек регулярно рождаются дизиготные (ДЗ) близнецы. У высших копытных (лошадей и крупного рогатого скота) и высших приматов, включая человека, при овуляции образуется, как правило, только одна яйцеклетка, но иногда бывают исключения. Если одновременно созревают два ооцита, то при оплодотворении двумя разными спермиями возникают дизиготные близнецы. Полиовуляция приводит иногда к образованию тризиготных троен и квадризиготных четверен. Но так возникают не все тройни, четверни и пятерни.

ДЗ близнецы не обязательно должны иметь всегда одного отца. Два ооцита могут быть оплодотворены спермиями разных мужчин, с которыми мать имела половые сношения в период овуляции. Представляет интерес один случай, имевший место в нацистской Австрии [681].

На момент обследования разнополым близнецам было 25 лет. Их официальный отец был евреем. В это время Австрия вошла в состав нацистской Германии и, чтобы освободить своих детей от «позора» быть полувреями, мать сообщила о внебрачных отношениях в момент зачатия близнецов. Помимо всех членов семьи был обследован и половой партнер. Определение групп крови АВО и MN (единственных систем, введенных в то время в практику) дало следующие результаты:

Официальный отец	B,M
Предполагаемый отец	A,MN
Мать	O,M
Брат-близнец	B,M
Сестра-близнец	A,MN

Если считать эти данные точными, можно сделать следующие выводы:

1. Отцом девочки не может быть муж этой женщины, поскольку ни от него, ни от матери она не могла унаследовать аллели A и N.

2. Отцом мальчика не может быть половой партнер матери, поскольку ни он, ни мать не несут аллеля B.

Теоретически общим отцом обоих близнецов мог быть третий мужчина (в частности, с группой крови AB, MN), но антропологические данные свидетельствовали о сильном сходстве мальчика с официальным отцом, а дочери — с предполагаемым. Данные о близнецовых парах с двумя отцами публиковались и позже. Они были получены в ходе судебных экспертиз по исключению отцовства. Например, описан случай, когда один из отцов был негром, а другой — белым.

Очень часто между кровеносными сосудами двух МЗ эмбрионов образуются анастомозы. У дизиготных близнецов это бывает редко и может привести к взаимному переливанию стволовых клеток крови, поскольку на ранних стадиях развития эмбрионы иммунологически толерантны друг к другу. В результате рождаются близнецы,

которые оказываются химерами (гибридами) с двумя популяциями генетически разных клеток крови [632, 828]. У крупного рогатого скота сосудистые анастомозы между ДЗ близнецами – явление обычное. Оно обуславливает частичную половую трансформацию (и бесплодие) самок в разнополых близнецовых парах.

**Монозиготные близнецы.** Намного интереснее образование монозиготных (МЗ) близнецов. В определенном смысле можно сказать, что они представляют собой результат крайнего варианта нормальной дупликации. У человека менее резко выраженные варианты дупликаций приводят к появлению «сиамских близнецов» или двухголовых уродов. Как правило, такие случаи летальны.

Однако некоторые необычные типы близнецов иногда выживают. Например, стали широко известными «сиамские близнецы» Чанг и Энг (рис. 3.71), родившиеся в Таиланде в 1811 г. В возрасте 18 лет они приехали в Соединенные Штаты Америки и жили тем, что участвовали в курьезных шоу. Позже они женились на двух сестрах. У Энга было 12 детей, а у Чанга – 10. Они поселились в штате Каролина и выращивали табак. В возрасте 61 года у Чанга произошел инсульт, и спустя два года он умер от бронхита. Энг, который был здоров до того момента, пока был жив брат, прожил после его смерти только два часа. Чанг и Энг оказались связанными тканевой перемычкой шириной около 10 сантиметров, простирающейся от нижнего конца грудины почти до пупка. При постмортальном исследовании было установлено, что эта перемычка содержала печеночную ткань, связывающую две печени. Следовательно, любая хирургическая попытка разделить братьев вряд ли была бы успешной в 1872 г. В настоящее время разединяют даже более обширные связи между такими близнецами.

Факторы, вызывающие у человека разделение зиготы на ранних стадиях дробления с образованием МЗ близнецов, пока неизвестны. В экспериментальной эмбриологии еще много десятилетий назад такие близнецы были получены у амфибий, а



Рис. 3.71. Сиамские близнецы Чанг и Энг. (По Lotze, 1937.)

недавно их удалось получить и у млекопитающих (разд. 4.7.1). Неоднократно обсуждался вопрос о зеркальном сходстве МЗ близнецов у человека. Поскольку в эксперименте у животных можно получить резко выраженную асимметрию, та асимметрия, которая обнаруживается в некоторых МЗ парах человека, вряд ли является неожиданной.

Иногда (очень редко) близнецы образуются в результате одновременного оплодотворения разными спермиями ооцита и его полярного тельца (разд. 1.2.24). В одном таком случае вместе с нормальным ребенком родился близнец-урод без сердца. Аномальный близнец возник в результате оплодотворения другим спермием первого полярного тельца, на что указывали гетероморфные варианты хромосом и HLA-гаплотипы [577].

**Частота многоплодия** [30]. В табл. 3.26 приведены частоты рождений МЗ и ДЗ близнецов в разных популяциях. Долю МЗ близнецов вычисляли с помощью дифференциального метода Вайнберга, в основе которого лежит тот факт, что МЗ близ-

**Таблица 3.26.** Частота многоплодных рождений (*Propping, Krüger, 1976 [842]*)

Страна	Период времени	ДЗ/10 000 рождений	МЗ/10 000 рождений
Испания	1951–1953	59	32
Португалия	1955–1956	56	36
Франция	1946–1951	71	37
Австрия	1952–1956	75	34
Швейцария	1943–1948	81	36
ФРГ	1950–1955	82	33
Швеция	1946–1955	86	32
Италия	1949–1955	86	37
Англия и Уэльс	1946–1955	89	36
США (белые)	?	67	39
США (негры) (Калифорния)	1905–1959	110	39
США (китайцы)	?	22	48
США (японцы)	?	21	46
Япония	1955–1962	24	40

нецы всегда однополые, а среди ДЗ близнецов однополых – только половина. Следовательно:

Частота ДЗ близнецов = Удвоенной частоте разнополых ДЗ близнецов

Частота МЗ близнецов = Частоте всех близнецов – частота ДЗ близнецов

Этот метод дает лишь приближенные оценки, поскольку иногда рождается больше мальчиков, чем девочек. Кроме того, имеются некоторые пока неподтвержденные данные, что однополые ДЗ близнецы встречаются чаще, чем можно ожидать. Возможно, это вызвано тем, что различия во времени овуляции и полового акта влияют на первичное соотношение полов. Однако можно вполне уверенно предполагать, что эти отклонения малы. Следовательно, данные табл. 3.27 являются достаточно хорошим приближением к реальной ситуации.

Если частота рождения МЗ близнецов мало меняется от популяции к популяции, то частоты рождения ДЗ близнецов различаются существенно: наибольшая обнаружена среди негров Африки, причем в разных племенах она варьирует. Так, в племени Йоруба в Нигерии частота близнецов составляет обычно 4,5%, но 4,2% из них – дизиготные. В США ДЗ близнецы рождаются чаще среди негров, чем у белых. В Европе частота дизиготности составляет примерно 8/1000 рождений. Но и здесь в отдельных популяциях также наблюдаются более высокие частоты. Например, на Аладских островах в период с 1900 по 1949 г. частота многоплодных родов составляла 15,2/1000. Самая низкая частота близнецов обнаружена в монголоидных популяциях, особенно в Японии. Отметим, что различия в частотах ДЗ близнецов сохраняются между основными расовыми группами и в том случае, если первичные данные корректируют с учетом возраста матери и порядка рождения близнецов.

*Факторы, влияющие на частоту рождения близнецов: возраст матери и порядок рождения.* Вероятность рождения близнецов повышается с возрастом матери. Это увеличение касается исключительно ДЗ близнецов, что было установлено еще Вайнбергом в 1921 г. Последующие работы подтвердили влияние возраста матери и пока-

**Таблица 3.27.** Частота врожденных уродств у близнецов и одиночек на 1000 рождений [843]

Источник	Приблизительный размер выборки	Частота у одиночных рождений (%)	Частота у близнецов (%)
<i>Hendricks (1966)</i>	~ 35 000	3,3	10,6
<i>Stewenson et al. (1966)</i>	421 000	12,7	14,4
<i>Hay, Wehrung (1970)</i>	10 200 000	5,8	6,2
<i>Onyskowska et al. (1971)</i>	240 000	13,2	26,4
<i>Emanuel et al. (1972)</i>	25 000	13,2	23,2

зали, что частота рождения ДЗ близнецов повышается практически от нулевой в пубертатном периоде на 0,7–0,8% за год до 35–39 лет, а затем постепенно падает [781; 842; 747]. Влияние возраста матери объясняется, вероятно, повышением уровня гонадотропина (ФСГ), что приводит к учащению полиовуляции. Например, у женщин племени Йоруба, родивших по две пары близнецов, обнаружены самые высокие уровни ФСГ, тогда как у матерей одиночно рожденных детей – самые низкие уровни. Эта гипотеза подтверждается тем фактом, что многие женщины, которых лечили гонадотропными гормонами от бесплодия, связанного с ановуляторными циклами, родили близнецов. С другой стороны, прекращение приема противозачаточных пилюль не влияет на частоту близнецовости [787]. Снижение частоты ДЗ близнецовых рождений в последней фазе репродуктивного периода может быть связано с функциональными нарушениями, которые препятствуют полиовуляции, несмотря на высокие уровни ФСГ. Частота рождения ДЗ близнецов повышается не только с возрастом матери, но и с порядковым номером рождения.

*Генетические факторы.* В начале нашего столетия Вайнберг [934; 935] установил, что появление близнецов ограничено определенными семьями, но такое семейное накопление (или кластеризация) справедливо только для ДЗ пар. Если провести необходимые поправки на возраст матери, уже родившей близнецов, вероятность повторных рождений у нее ДЗ близнецов оказывается примерно в 4 раза выше частоты близнецовых пар этого типа в популяции. Повышена также и вероятность родить ДЗ близнецов для родственниц такой женщины: для ее родных сестер он равен ее собственной вероятности. С другой стороны, для ДЗ близнецов мужского пола и отцов ДЗ близнецов эта вероятность не увеличивается. Тип наследования, по-видимому, мультифакториальный, а уровень гонадотропина может быть основной генетически детерминированной причиной.

Что касается МЗ близнецов, то нет никаких данных, свидетельствующих о генетической обусловленности этого типа мно-

гоплодия. Повторная вероятность для матерей МЗ пар не превышает среднюю популяционную вероятность. Интересно, что матери ДЗ близнецов в среднем примерно на 1–2 см выше, чем матери либо МЗ, либо одиночно рожденных детей [613].

*Снижение частоты рождения близнецов в индустриальных странах.* В течение последних лет почти во всех индустриальных странах наблюдается снижение частоты многоплодия. Следовательно, старое правило, в соответствии с которым одно рождение близнецов приходится на 80 одиночных рождений, вряд ли справедливо. Например, в сегодняшней Западной Германии приходится менее одного рождения близнецов на 100 одиночных рождений, что показано на рис. 3.72. Такое снижение наблюдалось во время первой мировой войны (1914–1918 гг.) и после кратковременного повышения в конце 30-х гг. вновь стало резко выраженным после 1945 г. Обычно это объясняют влиянием возраста матери. Среднее число беременностей в этот период снижалось, т.е. большинство беременностей приходилось на возраст, в котором вероятность родить близнецов ниже. Однако одного этого допущения недостаточно, оно объясняет лишь малую часть наблюдаемого снижения частоты рождения близнецов. Принимая во внимание известные физиологические и генетические данные, представляет, по-видимому, интерес следующая гипотеза [842].

Полиовуляция коррелирует со способностью к оплодотворению, т.е. с вероятностью (в расчете на один половой акт) зачатия ребенка. Один общий фактор – уровень ФСГ – влияет как на полиовуляцию, так и на способность к оплодотворению. Раньше женщины, способность к оплодотворению у которых была высокой, вносили в среднем больший вклад в уровень рождаемости, повышая тем самым число рождений ДЗ близнецов. В настоящее время количество детей в основном регулируется родителями, и значение биологической способности к оплодотворению для реального воспроизведения уменьшается. Следовательно, число рождений ДЗ близнецов также снижается. Эта гипотеза подтвержда-



**Рис. 3.72.** Снижение частоты многоплодных родов в Германии за последние годы. Снижение происходит полностью за счет ДЗ близнецов [842].

ется статистическими данными: например, в 1946 г. в США частота близнецов резко возросла. Известно, что за год до этого многие военнослужащие вернулись домой и контроль рождаемости практиковался, по видимому, не так широко. Как показано на рис. 3.72, в конце 30-х гг. в Германии наблюдался рост частоты близнецов. Как раз в это время нацистская пропаганда призывала к созданию больших семей, что вело к соответствующему повышению уровня рождаемости. Кроме того, матери внебрачных детей, которые могли представлять подгруппу женщин с высокой способностью к оплодотворению, имели высокий уровень многоплодия. С этой точки зрения расовый градиент в частотах многоплодия (черные-белые-желтые), возможно, был следствием естественного отбора на способность к оплодотворению. В Африке высокая детская смертность привела к необходимости в полной мере использовать репродуктивную способность женщины, тогда как в Японии контроль за рождаемостью практикуется столетиями, что, вероятно, снизило селективное преимущество высокой способности к оплодотворению.

*Частота многоплодных рождений.* Правило Геллина, в соответствии с которым частота рождений близнецовых двоен  $= t$ , тро-

ен  $= t^2$  и т.д., справедливо лишь очень приближенно. Возможны все комбинации моно-, ди-, тризиготности и т.д., например, в знаменитой семье Дионне из Канады все пятеро близнецов — монозиготные.

#### 3.8.4. Ограничения близнецового метода

*Систематические различия между близнецами и неблизнецами.* Цель близнецовых исследований заключается в получении результатов, применимых не только к близнецам, но и ко всей популяции. В любом близнецовом исследовании ставится следующий вопрос: отличаются ли близнецы от неблизнецов по изучаемому признаку? Любые различия могут снизить обоснованность каких-либо выводов, полученных для близнецовых групп.

При сравнении некоторых физиологических признаков выявились различия между близнецами и неблизнецами в период эмбрионального развития. Частота перинатально выявляемых аномалий у близнецов была выше. Их более низкий вес при рождении можно лишь частично отнести за счет меньшей продолжительности беременности. Частота мертворождений и смертности детей в раннем возрасте для близнецов значительно выше, чем для одиночек;



выше для них и риск умственной отсталости предположительно (во всяком случае частично) вследствие осложнений в период беременности и во время родов. Даже средний IQ как МЗ, так и ДЗ близнецов намного ниже, чем в контрольной популяции.

По-разному ли действуют средовые факторы на МЗ и ДЗ близнецов? Может ли это различие изменить вероятность проявления изучаемого признака? Ответы на эти вопросы важны, поскольку исходная концепция (разд. 3.8.2) близнецового метода предполагает, что партнеры в близнецовых парах независимо от зиготности развиваются в идентичных пренатальных и постнатальных средовых условиях. Наиболее простым показателем этого может служить вес при рождении. При обследовании выборки однополых близнецов (572 индивидов), сгруппированных по полу и типу зиготности, включая характер прикрепления плаценты, были получены следующие данные [843]:

Мальчики (n = 304)	Девочки (n = 268)
2659 г	2547 г

Дихорионные	Монохорионные	Дихорионные	Монохорионные
(196) 2703 г	(108) 2579 г	(162) 2577 г	(106) 2500 г
ДЗ МЗ МЗ		ДЗ МЗ МЗ	
(160) (36) (108)		(144) (18) (106)	
2728 г 2595 г 2579 г		2601 г 2385 г 2500 г	

Оказалось, что масса МЗ близнецов обоего пола меньше, чем ДЗ. Тип плаценты не влияет на среднюю массу живорожденных. Следовательно, вероятнее всего, именно тип зиготности, а не особенности прикрепления плаценты определяет различия новорожденных по массе.

Монохорионные партнеры (всегда монозиготные) обнаруживают по массе при рождении значительные внутрипарные различия, которые достигают иногда более 1000 граммов. Такие различия, могут быть следствием артериовенозных анастомозов, приводящих к хроническому «синдрому переживания», который заключается в посто-

янном неправильном питании и в значительном снижении содержания в крови гемоглобина и белков сыворотки у близнеца-донора. Поскольку более 20% всех МЗ близнецов являются монохорионными, указанный синдром, вообще говоря, мог бы объяснить большие внутрипарные различия в массе новорожденных МЗ близнецов, ненаблюдаемые у ДЗ близнецов [567].

Это прямо означает, что масса новорожденных не может служить тем признаком, для которого имеет смысл использовать близнецовый метод, например, для оценки наследуемости. Однако внутриутробное развитие влияет и на другие признаки. В табл. 3.28 (по сообщениям нескольких авторов) приведена частота некоторых врожденных пороков у близнецов и одиночек. Хотя частоты врожденных пороков сильно варьируют в пяти изученных выборках (возможно, из-за различия в диагностике), в целом в каждой из этих выборок пороки встречаются чаще у близнецов. Эта тенденция становится более четкой, когда рассматривают отдельные типы

**Таблица 3.28.** Частота некоторых врожденных пороков у близнецов и одиночек на 1000 рождений

Тип порока	Источ-ник	Частота у одиночек	Частота у близнецов		
			общая	одинаковый пол	разный пол
Врожденный порок сердца	а	0,74	1,65	1,82	1,27
	б	2,8	6,3	—	—
	в	0,59	0,71	0,81	0,49
	а	0,92	1,24	1,52	0,64
Анэнцефалия	б	1,3	1,2	—	—
	в	0,23	0,37	0,45	0,22
	а	0,61	0,72	0,91	0,32
	б	1,0	3,1	—	—
Гидроцефалия	в	0,30	0,40	0,45	0,31
	а	1,21	0,34	1,68	0,64
	б	0,8	0,4	—	—
	в	1,11	1,07	1,10	1,01
Заячья губа и (или) волчья пасть	а	1,21	0,34	1,68	0,64
	б	0,8	0,4	—	—
	в	1,11	1,07	1,10	1,01
	а	1,21	0,34	1,68	0,64

Источники: а - *Stevenson et al* (1966); б - *Edwards* (1968); в - *Hay, Wehrung* (1970) [см. 843].

аномалий. У близнецов риск повышается по крайней мере для врожденных пороков сердца, анэнцефалии, гидроцефалии, незаращения губы и неба. Для всех четырех признаков риск для однополых близнецов выше, чем для разнополых. Отсюда следует, что МЗ близнецов поражаются чаще, чем ДЗ. Такое различие легко объяснить «синдромом переливания». Если это объяснение справедливо, то пороки следует ожидать только у одного из близнецов, что подтверждается на практике. Например, описаны случаи, когда меньший из партнеров-близнецов рождается недоразвитым и со сросшимися ногами (сиреномелия). На основе данных, собранных Ленцем (1973) [761], этот порок встречается с частотой 1:1000 МЗ рождений, тогда как частота его в общей популяции в 60 раз меньше и составляет 1:60 000.

Близнецовые исследования при врожденных пороках, основанные на случайных выборках, обнаруживают относительно низкий уровень конкордантности МЗ близнецов (см. табл. 3.31). Однако именно в отношении этих пороков близнецовый метод может дать неоднозначные результаты [843]. Следует также помнить, что, как и во всех других случаях, до проведения близнецового исследования необходимо рассмотреть возможное влияние внутриутробных факторов на развитие самой многоплодной беременности.

*Особенности развития близнецов в постнатальный период.* Можно ли близнецов считать «нормальными» детьми? Можно ли результаты измерений экстраполировать на неблизнецовую популяцию? Необходимо упомянуть о следующих фактах.

У близнецов IQ меньше, чем у одиночек, особенно в младших возрастных группах. Это было установлено в 1947 г. при обследовании 11-летних шотландских школьников (включая 794 близнеца, оставшихся одинокими). Такой же результат получен для 95 237 французских школьников в возрасте от 8 до 13 лет (включая 808 близнецов). В 1960 г. Заззо [27] проанализировал данные по IQ и пришел к выводу, что среднее значение у близнецов составляет 93, тогда как популяционная средняя равна 100. Такая же закономерность обнаружена при обследовании всех призывников мужского пола 1948–1952 гг.

в Швеции [721]. Выборка охватывала 2935 близнецов, включая мужчин из разнополых пар и тех, у которых близнец умер. Различие составляло примерно 4 пункта по шкале IQ (0,25 стандартного отклонения). Дисперсия IQ была выше также у близнецов, а частота умственной отсталости у них оказалась в два раза выше, чем в общей популяции.

Причины сниженного интеллекта, видимо, различны. Одной из них может быть преждевременное рождение с небольшими повреждениями мозга, другой – более тяжелая нагрузка на семью в связи с заботами сразу о двух новорожденных.

Близнецы образуют социальную группу. Они в меньшей степени зависят от обмена информацией с внешним миром, поскольку у каждого из них есть «друг, дарованный природой» [587; 27]. Исследования в Центральной Европе показали, что у близнецов часто развивается «собственный язык», и скорее всего именно поэтому они начинают говорить позже других детей. Это в большей степени характерно для МЗ близнецов. Обычно они проводят больше времени вместе, часто сознательно стремятся быть во всем одинаковыми, в то время как ДЗ близнецы стремятся скорее подчеркнуть различие. Заметим, однако, что желание быть одинаковыми сильнее выражено у близнецов женского пола, нежели мужского. С другой стороны, известны случаи, когда у близнецов возникает протест против идентичности, особенно выраженный у МЗ близнецов мужского пола и приводящий даже к «близнецовой вражде» [918]. Один близнец может больше подчиняться отцу, а другой – матери, и это приведет к заметным поведенческим различиям между близнецами. Другой, часто наблюдаемый феномен в поведении близнецов – разделение ролей. Один из них осуществляет контакты с внешним миром, он обычно отвечает, когда обращаются к обоим, другой принимает решения по тем проблемам, которые касаются обоих близнецов. Или один может доминировать, а другой подчиняться. Такое разделение ролей характерно и для МЗ, и для ДЗ близнецов, но, по-видимому, чаще встречается у МЗ близнецов. Это может

привести к ложной дискордантности МЗ близнецов по поведенческим признакам.

Совершенно ясно, что эти особенности близнецовых взаимоотношений необходимо учитывать, особенно когда исследуются такие личностные характеристики, как «экстраверсия» и «невротическое состояние». Еще важнее, что эти отношения подвержены влиянию меняющихся в обществе стандартов. Раньше сходство близнецов обычно поощрялось: их одинаково одевали и отдавали в одну школу. Теперь многие педагоги рекомендуют подчеркивать различие. Такие особые условия жизни близнецов влияют главным образом на личностные характеристики, что делает близнецовый метод особенно неоднозначным в генетике поведения. Вызывает сожаление, что близнецовый метод часто используется в этой области, но не потому, что есть опасность его переоценки, а скорее потому, что существует очень мало других подходящих методов (разд. 8.2). Недостатки близнецового метода можно преодолеть, если изучать пары, которые разлучены в раннем возрасте и воспитываются раздельно. Однако на практике такие случаи редки.

В случае соматических заболеваний постнатальные особенности развития близнецов могут и не приводить к таким смещениям, как в генетике поведения. Для хронических инфекционных заболеваний, таких, например, как туберкулез или проказа, конечно, может оказаться важным, имел ли кто-то из партнеров близнецовой пары более тесный контакт с тем из родителей, который был носителем инфекции. В случае мультифакториально-детерминированных «конституциональных» заболеваний взрослых смещения вряд ли будут сильными.

### 3.8.5. Диагностика зиготности

Для каждого близнецового исследования требуется надежный метод диагностики зиготности. С тех пор как Сименс (1924) [870] сформулировал принцип диагностики на основе полисимптоматического сходства, эта проблема в основном, хотя и не полностью, решена. Недавнее введение в практику исследования генетических маркеров

сделало диагностику зиготности близнецов более независимой от личного мнения и опыта исследователя. Необходимые детали методов даны в приложении 5.

### 3.8.6. Применение близнецового метода для анализа альтернативных признаков

В этой области близнецовый метод может служить достижению трех целей.

1. Различия в конкордантности между МЗ и ДЗ близнецами можно использовать для оценки значимости генетической изменчивости подверженности при данном заболевании.

2. Можно оценить пенетрантность, т.е. вероятность проявления заболевания.

3. Можно изучать условия проявления признака.

На ранних этапах близнецовых исследований большинство работ было посвящено решению первых двух вопросов, однако в последнее время особое внимание уделяется третьей проблеме. Для решения указанных задач существуют четыре подхода [769].

1. *Сообщения о единичных случаях.* В клинических журналах публикуются описания отдельных случаев конкордантности или дискордантности близнецовых пар, особенно монозиготных. Как правило, эти случаи публикуются в связи с их необычностью. Научное значение такого подхода состоит в том, что тщательный анализ дискордантных МЗ пар, особенно для редкого заболевания, позволяет сделать вывод о его генетической детерминированности. Выявление даже одной дискордантной по какому-либо заболеванию МЗ пары означает, что возникновение этого заболевания обусловлено не только генетическими факторами.

2. *Сообщения о серии случаев.* При анализе серии сообщений, касающихся одного заболевания, действуют те же ограничения, что и для единичных случаев. Хотя компилирование близнецовых данных, по-видимому, нерепрезентативно, систематический анализ дискордантных близнецов может привести к идентификации средовых факторов, способствующих полному проявлению

заболевания. Относительно малые выборки дискордантных близнецов могут дать намного больше информации о факторах полного проявления заболевания, чем исследования больших популяций, в рамках которых может оказаться непреодолимой проблема адекватных контрольных выборок.

3. «Ограниченная репрезентативная» выборка. Это наиболее распространенный подход к получению больших несмещенных выборок близнецовых пар. Люксембургер называл его «ограниченным репрезентативным», потому что выборка осуществляется не в пределах какого-то определенного региона в конкретный период времени, а через больных пробандов. В популяции пораженных изучаемым заболеванием регистрируют всех близнецов. Их партнеров исследуют для того, чтобы установить, поражены ли они или нет. Важно, чтобы были зарегистрированы все близнецы в популяции пораженных. В противном случае конкордантные пары будут с большей вероятностью попадать в выборку, чем дискордантные. Полная регистрация всех близнецов достигается в том случае, если их частота в выборке равна частоте в общей популяции. Доля однополых и разнополых близнецов – а после диагностики зиготности и доля МЗ и ДЗ близнецов – должна соответствовать таковым в общей популяции. Этот метод значительно упростится, если стандартный опросник для госпитализированных больных будет включать дополнительный вопрос: «Является ли больной близнецом?».

4. Неограниченная нерепрезентативная выборка. В этом случае в популяции регистрируются все близнецы и выясняется, страдают ли они изучаемым заболеванием. Для получения такой выборки необходимо проанализировать данные о рождении за несколько лет. В результате число индивидов, которые должны быть обследованы, оказывается намного больше, чем в «ограниченной репрезентативной» выборке. Например, если частота признака равна 0,5%, а частота близнецов составляет 1:50, то при «ограниченном репрезентативном» подходе, чтобы найти 200 близнецов, необходимо просмотреть 10 000 больных, а при

«неограниченном репрезентативном» подходе должна быть проскринирована общая популяция размером в два миллиона человек. Применение такого подхода при изучении психических заболеваний в Дании, Норвегии и Финляндии [2042; 2108; 2217] привело к результатам, которые в некоторых отношениях отличаются от полученных на основе «ограниченной репрезентативной» выборки. В Будапеште (Венгрия) регистрируются все близнецы, родившиеся после 1969 г. [618].

На основе неограниченного репрезентативного подхода недавно в США была сформирована большая выборка близнецов. В нее вошли все близнецы мужского пола, зарегистрированные в американской армии во время второй мировой войны. Для нормирования выборки использовали близнецовый регистр Национального исследовательского центра (Вашингтон, округ Колумбия). На этой выборке уже получен ряд результатов, некоторые исследования находятся в процессе выполнения.

### 3.8.7. Пример: проказа в Индии

В качестве примера опишем применение близнецового метода для исследования проказы в Индии [608]. Это заболевание вызывается *Mycobacterium leprae* (бацилла Хансена). Известно, что не каждый, кто подвергается опасности заражения, действительно оказывается зараженным проказой, и не у всех, кто заразился, обнаруживаются клинические симптомы. Кроме того, инфекция приводит к разным последствиям в зависимости от иммунного статуса организма. У одних больных симптомы ограничиваются появлением депигментированных и безболезненных пятен (туберкулоидная проказа), а у других можно обнаружить инфильтраты (лепроматозная проказа).

Очевидные различия в восприимчивости имеют много причин; несомненно и влияние генетических факторов. Известны два типа данных, свидетельствующих об этом: накопление одной и той же формы проказы среди близких родственников и расовые различия в относительной частоте разных форм проказы. У белых и негров чаще встречается туберкулоидная форма, а на Востоке преобладает лепроматозная проказа. Близнецовые исследования туберкулеза также указывают на важность генетических факторов в восприимчивости к инфекции. Результаты других исследований, проведенных на малых выборках

**Таблица 3.29.** Конкордантность 102 близнецовых пар (62 МЗ и 40 ДЗ) с проказой (*Chakravarti, Vogel, 1973 [608]*)

Пол	МЗ пары	ДЗ пары
	конкордантные	конкордантные
♂	24 = 60,0%	5 = 22,7%
♀	13 = 59,1%	1 = 16,7%
♂ ♀	—	2 = 16,7%
Всего	37 = 59,7%	8 = 20,0%

$\chi^2 = 15,53; P \sim 0,003$

больных, хотя и не полностью удовлетворительны с методической точки зрения, все же позволяют предполагать участие генетических факторов в патогенезе проказы [608].

Обсуждаемое здесь близнецовое исследование было проведено в эндемичных по проказе областях Индии — в штатах Западная Бенгалия и Андхра Прадеш, где поражены по крайней мере 2–4% населения. Были предприняты определенные усилия, чтобы зарегистрировать всех близнецов, страдающих проказой в этих районах. Сначала всем, кто находился в постоянных или временных лепрозориях, задавали два вопроса: а) «являетесь ли вы близнецом?» и б) «есть ли близнецовые пары в вашей семье или деревне?». Затем исследование было распространено на деревни. Были обследованы 102 близнецовые пары по крайней мере с одним пораженным проказой.

Данные табл. 3.29 показывают, что степень конкордантности МЗ близнецов значительно выше, чем ДЗ близнецов. Кроме того, во многих пораженных МЗ парах течение болезни и размер пораженных участков обнаруживали большое

**Таблица 3.30.** Конкордантность и дискордантность МЗ и ДЗ близнецов по типу проказы [608]. (включены только близнецовые пары, конкордантные по проказе)

	Конкордантность по типу	Дискордантность по типу	Общая сумма
МЗ близнецы	32	5	37
ДЗ близнецы	6	2	8
Общая сумма	38	7	45

сходство. Внутрипарные различия по возрасту начала заболевания во всех конкордантных (МЗ и ДЗ) близнецовых парах оказались меньше у МЗ, чем у ДЗ близнецов.

Поскольку проказа характеризуется разными клиническими проявлениями, то возможен анализ конкордантности и в отношении ее клинических форм. Данные табл. 3.30 показывают, что из 37 МЗ пар, конкордантных по проказе, пять оказались дискордантными по форме заболевания: один близнец имел туберкулоидную форму, а другой — лепроматозную. Именно эти пары дают благоприятную возможность для получения новых данных. Существовало мнение, что в случае лепроматозной формы проказы имеет место простой тип наследования. В качестве возможного объяснения предполагалось снижение функции Т-лимфоцитов. Однако обнаружение пяти МЗ близнецовых пар, конкордантных по проказе, но дискордантных по клинической форме заболевания, делают все эти предположения маловероятными. Таким образом, близнецовые исследования помимо выяснения того, как генетическая изменчивость популяции влияет на восприимчивость к заболеванию, позволяют проверить достаточно конкретные гипотезы о его патогенезе.

Необходимо также рассмотреть возможные смещения. Были предприняты определенные усилия, чтобы зарегистрировать в изучаемых районах всех близнецов, страдающих проказой. Однако, как показывают относительные частоты, регистрация МЗ близнецов была намного полнее, чем ДЗ близнецов. (В индийской популяции отношение МЗ/ДЗ практически такое же, как в европейских популяциях.) Как было выяснено, причина такого смещения заключалась в специфических жизненных условиях в этой части Индии. Большинство обследованных из сельских районов было неграмотно, многие не знали даже свой точный возраст. Близнецовую пару выявляли обычно только тогда, когда уже исцеля было не обратить внимание на сходство. При таких обстоятельствах ДЗ близнецов часто даже не замечали. Иногда сами сибсы не подозревали, что они близнецы.

Как неполная регистрация ДЗ близнецов могла повлиять на результат? Поскольку при регистрации предпочтение нередко отдавалось конкордантным парам, то различия между МЗ и ДЗ парами скорее могли быть недооценены. Однако более важен другой вопрос: полностью ли зарегистрированы МЗ пары? Скорее всего — нет: некоторые пары могли успешно скрыть свое заболевание, поскольку жили в колониях для нищих и находились вне поля зрения медиков; близнецы из высших социальных слоев могли

избежать обследования благодаря тому, что лечились у частных докторов; некоторые больные могли дать неправильные ответы, чтобы исключить социальное клеймо «прокаженных» для своих отчаявшихся близнецов или родственников. Поскольку большинство из этих факторов касается как МЗ, так и ДЗ близнецов независимо от конкордантности или дискордантности, то вряд ли селекция пробандов сильно влияла на степень конкордантности в МЗ парах. Тем не менее показатели конкордантности все же могут быть завышенными.

Что касается средовых факторов риска, то анализ дискордантности МЗ пар подтвердил, что наиболее важен непрерывный и интенсивный контакт с инфицированными. Следовательно, столь же высокие показатели конкордантности можно ожидать лишь в тех районах, где проказа высокоэндемична. Другими словами, если инфекция почти повсеместна, то вероятность развития болезни зависит главным образом от наследственной восприимчивости. В популяциях с более низкой частотой проказы инфицирование больше зависит от случайных факторов. Вот почему в этом случае можно ожидать более низкий уровень конкордантности МЗ близнецов.

Аналогичные результаты были получены при исследовании туберкулеза [919]. По данным ранних работ уровни конкордантности близнецов оказались приблизительно такими же, как и в описанном исследовании проказы. Однако эти данные были получены в то время, когда почти каждый житель индустриально развитых регионов, таких, как Европа и США, подвергался воздействию инфекции (о чем свидетельствовали положительные реакции на туберкулез). В более позднем исследовании показатели конкордантности оказались ниже [873], между тем риск заражения туберкулезом заметно снизился.

При таких соматических заболеваниях, как проказа, установленные уровни конкордантности близнецов (и, следовательно, выводы относительно степени генетической детерминации подверженности) справедливы только для тех средовых условий, в которых обитают исследуемые близнецы. При экстраполяции этих выводов на другие популяции необходимо детально рассмотреть условия жизни в этих популяциях. Например, в Центральной Европе проказа исчезла в XVII, XVIII столетиях без всякого лечения, только благодаря улучшению

жизненных условий. Генетические изменения, вероятно, лишь в очень малой степени влияли на исчезновение проказы (а может быть, не влияли вовсе).

### 3.8.8. Близнецовые исследования других широко распространенных заболеваний

В табл. 3.31 приведен перечень заболеваний, для которых с помощью близнецового

**Таблица 3.31.** Выборки близнецов с мультифакториальными (исключая психические) заболеваниями. (По Verschuer, 1959 [919] и Jørgensen, 1974 [728].)

Признак	Близнецы	Конкордантные		Отношение конкордантностей МЗ/ДЗ
		<i>n</i>	%	
Косолапость	МЗ	35	8	22,9
	ДЗ	135	3	2,3
Врожденный вывих бедра	МЗ	29	12	41,4
	ДЗ	109	3	2,8
Расщелины губы и неба	МЗ	125	37	29,6
	ДЗ	236	11	4,7
Рак	МЗ	196	34	17,4
	ДЗ	546	59	10,8
Ишемическая болезнь сердца	МЗ	21	4	19,0
	ДЗ	47	4	8,5
Диабет	МЗ	181	101	55,8
	ДЗ	394	45	11,4
Атопии	МЗ	12	6	50,0
	ДЗ	23	1	4,4
Гиперфункция щитовидной железы	МЗ	49	23	47,0
	ДЗ	64	2	3,1
Псориаз	МЗ	31	19	61,0
	ДЗ	46	6	13,0
Желчно-каменная болезнь	МЗ	49	13	26,6
	ДЗ	62	4	6,5
Туберкулез	МЗ	381	202	51,6
	ДЗ	843	187	22,2
Саркоидоз	МЗ	4	2	50,0
	ДЗ	11	1	8,5

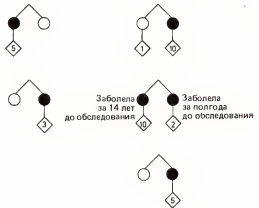
**Таблица 3.32.** Конкордантность близнецов при некоторых инфекционных заболеваниях. (По Jørgensen, 1974 [728].)

Заболевание	Близнецы <i>n</i>	МЗ			ДЗ			Отношение конкордантностей МЗ/ДЗ
		<i>n</i>	конкорд.	%	<i>n</i>	конкорд.	%	
Корь	3645	1629	1586	97,4	2016	1901	94,3	1,03
Скарлатина	702	321	175	54,6	381	179	47,1	1,16
Пневмония	800	328	106	32,3	412	86	18,2	1,77
Туберкулез	1316	386	204	52,8	930	192	20,6	2,56

метода выявлена генетическая подверженность. Первая группа в указанном списке включает различные пороки эмбрионального развития, поэтому синдром «переливания» мог в этом случае оказать влияние на степень конкордантности. Для всех заболеваний конкордантность МЗ близнецов заметно выше конкордантности ДЗ близнецов. Эти данные удовлетворяют «близнецовому критерию» для мультифакториальных заболеваний (разд. 3.6.2).

В табл. 3.32 приведены показатели конкордантности для четырех распространенных инфекционных заболеваний. Сама по себе высокая конкордантность еще не говорит об участии генетических факторов в подверженности: для такого вывода необходима значимая разница между показателями конкордантности МЗ и ДЗ близнецов. Например, почти каждый ребенок рано или поздно переболеет корью, следовательно, конкордантность и МЗ, и ДЗ близнецов, естественно, будет высокой, указывая на то, что генетические факторы не имеют особого значения в восприимчивости к кори. Данные, представленные в табл. 3.32, собраны в то время, когда эти заболевания были очень распространены.

Анализ дискордантности в какой-то мере может пролить свет на соотношение генетических и средовых факторов в подверженности заболеванию. Исследования, проведенные Лемсером в 1938 г. [756], показали, например, что беременности, в особенности многоплодные, могут способствовать проявлению диабета у предрасположенных женщин. Так, в ряде случаев в женских близнецовых парах одна из сестер

**Рис. 3.73.** Пять взрослых МЗ пар, дискордантных по сахарному диабету. У одной из сестер, у которой было много беременностей, развился сахарный диабет, тогда как другая (с меньшим числом беременностей или вообще без них) оставалась здоровой в большинстве случаев или заболела диабетом намного позже в одном случае (данные из Lcmser, 1938 [756].)

заболевала диабетом после нескольких беременностей, тогда как другая, с меньшим числом беременностей, оставалась здоровой (рис. 3.73). Однако данные близнецовых исследований относительно генетических аспектов подверженности заболеванию обычно довольно общие и неспецифические, вот почему их популярность в последние годы заметно снизилась. В сравнении с затратами времени результативность этих исследований ограничена. Заметим, однако, что именно с помощью близнецового метода недавно было установлено, что ге-

нетические факторы играют определенную роль в биотрансформации всех исследованных лекарств (разд. 4.5).

### **3.8.9. Близнецовый метод в изучении признаков с непрерывным распределением**

В какой степени изменчивость признака в популяции детерминирована генетическими факторами? Чтобы ответить на этот вопрос, признак нужно уметь измерить. Это может показаться самоочевидным, однако в генетике поведения (разд. 8.2) выбор соответствующих инструментов для измерений степени выражения признаков в действительности является важной проблемой. Если эта проблема решена, возникает следующая: как получить близнецовую выборку? Обычно школы, колледжи или призыв на военную службу обеспечивают хорошие возможности для формирования «неограниченной репрезентативной выборки» (разд. 3.8.6). Однако нелегко найти действительно несмещенную выборку. По крайней мере одно из смещений всегда существует, например, для признака «готовность добровольно сотрудничать». Этот признак обычно коррелирует с уровнем образованности: более образованные люди в среднем и более общительны. МЗ близнецы согласятся сотрудничать с большей вероятностью, чем ДЗ. Вполне возможно, что склонность к сотрудничеству коррелирует с личностными особенностями. Следовательно, такой источник отбора может исказить результаты многих исследований по генетике поведения.

Когда рассматривается вопрос об измерении признака, важным аспектом, которым нередко пренебрегают, являются ошибки измерений. Они могут касаться оценок наследуемости. При антропологических измерениях исследователь может тестировать изменчивость признака, измеряя одних и тех же людей повторно в разные моменты времени.

*Оценки наследуемости, получаемые из близнецовых данных.* Понятие наследуемости уже было введено в разд. 3.6.1.5. Для признаков с непрерывным распределением, например, таких, как рост, наследуемость оценивали, сравнивая

родителей и детей. Близнецовые данные можно использовать в качестве альтернативного способа получения оценок наследуемости. Этот метод будет обсуждаться в приложении 6, где для вычисления  $h^2$  использованы три альтернативных подхода:

- $h_1^2$  из сравнения МЗ и ДЗ пар;
- $h_2^2$  из сравнения МЗ пар с контрольными парами неродственников соответствующего возраста, из тех же выборок;
- $h_3^2$  из внутриклассовых коэффициентов корреляции для всей выборки МЗ пар, с одной стороны, и ДЗ пар – с другой.

Важно помнить, что все эти три оценки характеризуются различными смещениями, и, следовательно, получить несмещенную оценку  $h^2$  на основании близнецовых данных невозможно. В особенности это справедливо для оценки  $h_3^2$  из внутриклассовых коэффициентов корреляции, которая в основном и цитируется в литературе.

Большинство оценок наследуемости из близнецовых данных основаны на нереалистических предположениях. Например, предполагается, что все близнецы представляют собой несмещенную выборку из популяции, а конкретно исследуемые близнецы являются несмещенной выборкой из всех близнецов. Считают также, что среда близнецов совпадает со средой общей популяции и что на МЗ и ДЗ близнецов влияют идентичные средовые факторы. Это предположение наименее обоснованно, поскольку МЗ близнецы часто обеспечивают себе более сходную среду. Однако взаимодействие между наследственностью и средой, а также ковариация между наследственностью и средой обычно незначимы. Вместе с тем эффекты доминирования неотделимы от аддитивной генетической дисперсии. Ограниченность понятия наследуемости исключает какие-либо выводы относительно числа действующих генов и препятствует разгадке генетического механизма. Все эти факты должны предостеречь нас от слишком буквального толкования оценок наследуемости, получаемых на основе близнецовых данных. Они являются лишь сырым материалом, который может служить в качестве первого ориентира при оценке генетической компоненты в фенотипической изменчивости определенного признака.

### **3.8.10. Значения оценок наследуемости: данные по росту**

Высокая наследуемость показана для роста. Это означает, что изменчивость условий среды, в которой обитает популяция изучаемых близнецов, оказывает



слабое влияние на фенотипическую изменчивость по росту. Некоторые считают даже, что рост вообще является стабильным признаком, который не меняется под действием каких-либо изменений среды, за исключением, быть может, крайних случаев, таких, как сильное истощение. Было показано, что этот вывод ошибочен.

*Увеличение роста за последние столетия [758].* За последнее столетие в Европе и США наблюдалось ощутимое увеличение роста населения. Статистический анализ помогает объяснить этот факт.

Средний рост в Центральной и Западной Европе оставался более или менее постоянным с неолита вплоть до середины XIX века. С этого времени он постоянно увеличивался. Некоторые примеры приведены в табл. 3.33. Ту же тенденцию демонстрируют многие данные, полученные в разных странах.

Отметим, однако, что в разных популяциях увеличение роста началось в разное время. Например, в Северной Голландии между 1821 и 1858 гг. средний рост новобранцев снижался; такое же снижение наблюдалось и во Фландрии в 40-е гг. прошлого века. В этот период обе страны страдали от экономической депрессии. И в других странах в период экономических трудностей рост людей имел тенденцию к снижению и повышался, когда экономическая ситуация улучшалась. Например, в Аргентине существенное увеличение роста имело место только в двадцатом столетии. Многие авторы сообщали о различиях в росте между городскими и сельскими жителями, причем в некоторых ре-

**Таблица 3.34.** Рост (в см) швейцарских новобранцев. (Lenz, 1959 [758].)

Кантон Люцерн	1897-1902	1927-1932	Увеличение
Коммерсанты и студенты	166,6	171,2	+ 4,4
Фабричные рабочие	161,8	167,0	+ 5,2
Фермеры	163,1	166,1	+ 3,0
Кантон Швиц	1887	1935	
Работники умственного труда	167,0	170,6	+ 3,6
Работники тяжелого физического труда	164,0	169,4	+ 5,5
Работники легкого физического труда	163,2	168,0	+ 4,8
Фермеры	162,9	168,7	+ 5,8
Фабричные рабочие	155,9	169,6	+ 13,7
Цюрих	1910	1930	
Коммерсанты и студенты	169,6	172,7	+ 3,1
Портные	166,5	169,5	+ 3,0
Фабричные рабочие	166,4	170,5	+ 4,1
Фермеры	165,8	168,4	+ 2,6
Кузнецы	165,7	168,8	+ 3,1

гионах сельские популяции были выше, чем городские, а в других — наоборот. С другой стороны, различия между социальными группами сопоставимы (табл. 3.34): различия, проявившиеся около 1900 г., почти исчезли к 1930 г. За это время рост экономически менее обеспеченных групп сравнялся с ростом более обеспеченных слоев.

Похожие различия между социальными группами обнаружены и по возрасту начала полового созревания (пубертата) и по скорости увеличения роста и веса в детстве. Для этих признаков также показано, что различия между социальными группами стали намного меньше или вовсе исчезли.

*Более детальный анализ.* Любая попытка объяснить увеличение роста должна опи-

**Таблица 3.33.** Средний рост взрослых мужчин (в см). (Lundmann; см. Lenz, 1959 [758].)

	Швеция	Норвегия	Дания
Каменный век	169,5	164	170,0
Бронзовый век	166,5	—	166,5
Железный век	167,0	167,0	168
Средние века	167,5	167,0	—
1855 г	167,5	168,0	165,5
1939 г	174,5	174,5	171,5

ратся на анализ факторов, меняющихся главным образом в популяции менее обеспеченных групп. Одна из гипотез, объясняющих разницу в росте городских и сельских жителей, состояла в том, что урбанизация приводит к «стимуляции» нервной системы и, возможно, влияет на продукцию гормона роста. Однако это объяснение не подтверждается статистическими данными. Различия по росту между городскими и сельскими популяциями обычно обнаруживались только тогда, когда уровень жизни в сельских районах был ниже. Более раннее половое созревание в городских популяциях имело место только тогда, когда общий уровень жизни был выше.

Другой фактор, который необходимо рассмотреть, — возраст, в котором проявляется тенденция к увеличению роста. Оказывается, что даже средняя масса новорожденных сегодня примерно на 100–300 г выше, чем 100 лет назад. Возможно, правда, что эти данные завышены, поскольку выборка новорожденных, обследованных 100 лет назад, была смещена в сторону менее обеспеченных социальных слоев (женщины из средних классов обычно рожали дома). Однако дети в возрасте около года в начале 50-х гг. нашего века в среднем были тяжелее на 1,5–2 кг, чем дети той же возрастной группы 100 лет назад. Это увеличение за столетие выражено намного ярче, чем увеличение массы при рождении. Помимо этого, многочисленные исследования показали, что увеличение роста и массы тела в течение первого года жизни практически не зависит от массы при рождении. Следовательно, существенная часть более высокого уровня роста может быть отнесена за счет детского возраста.

Решающий фактор увеличения роста должен действовать до школьного возраста. В наше время менструации у девочек начинаются на 3–4 года раньше, чем это было 100 лет назад. Заметим, однако, что современный ребенок в пубертатном возрасте в среднем примерно на 10 см выше, чем его сверстник 100 лет назад. Увеличение роста в последние годы было более интенсивным, чем более раннее начало периода созревания. Следовательно, увеличение среднего роста взрослых не может быть

следствием большей скорости роста во время или после пубертатного периода.

*Наиболее вероятное объяснение.* Некоторые авторы пытались объяснить это явление генетически, привлекая механизмы гетерозиса, т. е. постулируя увеличение скорости роста вследствие возросшей гетерозиготности населения. Не вызывает сомнения, что средняя гетерозиготность возросла во многих популяциях. Однако увеличение роста обнаружено и в областях, в которых сохранились популяции-изолаты. Кроме того, исследование межрасовых гибридов показало, что в среднем они не выше, чем представители популяций тех рас, из которых они происходят. Следовательно, необходимо очень осторожно анализировать данные, которые свидетельствуют о снижении роста в инбредных популяциях человека.

Отбор не может быть решающим фактором в повышении роста людей. Ведь социальные группы более высокого ранга имеют намного более низкий репродуктивный уровень. Скорее всего эта тенденция не имеет генетической основы. Должен существовать некоторый средовый фактор. Принимая во внимание различия между популяциями и различия внутри одной популяции (между социальными группами), наиболее правдоподобным фактором, объясняющим более высокий рост жителей Западной Европы и Японии, может служить улучшенное питание новорожденных и детей. Свой вклад в этот эффект, вероятно, вносит и профилактика инфекционных заболеваний, таких, как диспепсия новорожденных. Различия в питании и в степени защищенности от кишечной инфекции в раннем детстве можно объяснить и разницу в росте среди разных расовых групп. Например, Вальтер (1976) [930] показал, что так называемое правило Бергмана, в соответствии с которым разновидности одного вида имеют тенденцию быть мельче и легче в теплом климате и крупнее и тяжелее в холодном, применимо также и к человеку.

*Урок, который следует извлечь из этого примера.* Весьма высокая наследуемость

конкретного признака, обнаруженная при определенных условиях среды, вовсе не означает, что в иных условиях среды, которые могут влиять на всю популяцию или значительную ее часть, этот признак не проявит выраженной изменчивости.

Особенно это справедливо для признаков, развивающихся в течение длительного времени, поскольку за этот период организм может подвергаться воздействию различных меняющихся внешних факторов. Однако было бы неправильно заключить, что любое изменение среды обязательно влияет на такой признак: даже те факторы, которые на первый взгляд обязательно должны оказывать какой-либо эффект, могут не иметь никакого влияния. В общем случае предсказания невозможны, все ситуации различны. К этой теме мы вернемся вновь в разделе, посвященном генетике поведения.

### 3.8.11. Метод близнецовых семей [768; 732]

Собирать отдельно близнецовый и семейный материал для планируемого исследования весьма непросто. Вот почему, если предполагают изучать определенный признак с помощью обоих методов, разумно обследовать семьи близнецов. Это существенно упрощает процедуру сбора материала.

Два подхода можно объединить. Тот факт, что некоторые МЗ пары близнецов окажутся конкордантными, а другие – дискордантными по данному заболеванию, объясняется одной из двух или сразу двумя причинами: 1) на проявление заболевания могут оказывать влияние негенетические факторы и 2) могут существовать две разные формы заболевания – наследственная и ненаследственная. Чтобы ответить на вопрос, какая из гипотез верна, необходимо сравнить показатели эмпирического риска для близких родственников конкордантных МЗ пар с таковыми у дискордантных. Если имеет место гетерогенность и одна из форм заболевания представляет собой фенотип, риск у родственников дискордантных МЗ пар будет не выше, чем в общей популяции. Если конкордантность обусловлена

**Таблица 3.35.** Количество близнецовых пар с родителем-диабетиком (Tattersall, Pyke, 1972 [906])

	Конкордантные	Дискордантные
Все возрасты	21 из 65 (32%)	1 из 31 (3%)
Пробанд-близнец, заболевший до 40 лет	6 из 30 (20%)	1 из 28 (3%)
Пробанд-близнец, заболевший после 40 лет	15 из 35 (42%)	0 из 3

Отметим, что частота пораженных родителей намного выше для конкордантных пар, чем для дискордантных, в особенности для тех пар близнецов, у которых диабет обнаруживается после 40 лет

средовыми факторами, то следует ожидать одинаковый риск для родственников как конкордантных, так и дискордантных близнецов.

Насколько нам известно, первым применил метод близнецовых семей Люксембургер [769]. Предполагив, что спорадические (ненаследственные) случаи редки или вовсе отсутствуют, он показал, что при шизофрении эмпирический риск примерно одинаков для родственников и конкордантных, и дискордантных пар МЗ близнецов.

Метод близнецовых семей оказался чрезвычайно полезным при исследовании диабета [906]. Было проанализировано 96 пар МЗ близнецов, 65 пар продемонстрировали конкордантность по диабету. По мнению автора, выборка была смещенной в отношении конкордантности, и эти данные не вошли в табл. 3.35. Результаты семейного анализа конкордантных и дискордантных пар оказались очень интересными. Количество близнецовых пар с одним пораженным родителем было намного больше в конкордантной группе, чем в дискордантной. Это может означать, что существуют две формы диабета: одна преимущественно наследственная, а другая в основном средовая. Такое заключение согласуется с рядом других данных: конкордантность намного выше для пробандов, заболевших после 40 лет; в 75% конкордантных пар разность по возрасту полного проявления заболевания у партнеров не превышала 3 года, тогда как в половине дискордантных пар близнецы были дискордантными не менее 10 лет; большинство непораженных близнецов имели

нормальные показатели в тесте на толерантность к глюкозе. Кроме того, для конкордантных близнецов-диабетиков обнаруживалась специфическая тенденция: дети, рожденные ими до начала болезни, имели большую массу. У непораженных партнеров в дискордантных парах эта тенденция отсутствовала. Негенетическая форма чаще охватывает случаи юношеского диабета, хотя конкретные средовые факторы не были вскрыты в этом исследовании. Вместе с тем в ходе работы, проведенной уже после завершения описанного исследования, было установлено, что диабет, проявляющийся после 30 лет, не ассоциирует с HLA-антигенами, тогда как юношеский диабет обычно ассоциирует. Таким образом, генетические факторы, вероятно связанные с иммунным ответом (разд. 3.7.3), вовлечены в подверженность при юношеском диабете, но не при взрослом.

### 3.8.12. Метод контроля по партнеру [680]

Поскольку МЗ близнецы очень сходны или идентичны по ряду признаков, их можно использовать для изучения того, влияют ли (и в какой степени) конкретные средовые факторы на изменчивость данного признака. Часто признак со временем спонтанно меняется, например, развитие болезни само прекращается, а мы можем ошибочно приписать это врачебному вмешательству или воздействию внешних факторов.

МЗ близнецы предоставляют благоприятную возможность изучать влияние какого-либо фактора, воздействуя им только на одного из близнецов. Таким образом регистрируют возможную изменчивость признака.

Хотя этот метод был разработан для изучения влияния уровня образования на характеристики поведения человека, сфера его применения шире. Например, его можно использовать для тестирования эффективности определенных терапевтических мероприятий.

В одной из работ [742], чтобы установить, можно ли благодаря «психологической тренировке» улучшить определенные характеристики интеллекта, с помощью психологических тестов были об-

следованы 22 МЗ и 28 ДЗ пар близнецов. Сначала тестирование проводили без предварительной тренировки. Затем близнец с худшими показателями тренировался раз в неделю в течение пяти недель, после чего обоих близнецов снова обследовали. Было установлено, что тренировавшиеся близнецы улучшили свои результаты, тогда как в контрольной группе показатели не изменились.

В шведском исследовании [824] на выборах 10 МЗ и 8 ДЗ однополых близнецов сравнивали два метода обучения чтению и правописанию. Преимущества, обычно приписываемые аналитическому методу, при котором начинают с чтения целых слов, а не отдельных букв, не подтвердились. Напротив, более эффективными оказались традиционные методы, когда учат объединять отдельные буквы в слова. В силу разной структуры языков такой результат нельзя, конечно, сразу обобщать. Было бы интересно воспроизвести подобное исследование в англоязычной популяции, поскольку в английском языке произношение букв много больше зависит от контекста внутри слов, чем в других европейских языках.

### 3.8.13. Вклад генетики человека в теорию болезней [923]

*Болезни с простыми причинами.* Современная медицина пытается понять природу заболеваний. Общая теория, способная объяснить все болезни, отсутствует и, вероятно, никогда не появится, однако возможны частные теории, объясняющие определенные аспекты патологии. Например, оказывается, что концепция заболеваний, обусловленных в каждом случае одной-единственной главной причиной, очень эффективна. Действительно, множественные и разнообразные признаки туберкулеза — лишь следствие инфицирования туберкулезной палочкой.

Развитие туберкулезной инфекции и естественное течение туберкулеза у индивида зависят от многих дополнительных обстоятельств, включая генетические факторы. Теория болезни, которая концентрируется вокруг концепции нозологического един-

ства, порождаемого единичной причиной, конкретна, она требует выяснения механизмов и поэтому имеет мощное объясняющее значение. В качестве первого шага такая теория предпочтительнее, чем концепция, которая базируется на чистом описании симптомов типа «кашель» или «кровохарканье» или на конструкциях более «низкого» порядка, таких, как «хроническое воспаление легких», на которых основывалась органный патология XIX столетия. Цель научного исследования болезни заключается в замене описательной патологии более объясняющими концепциями.

Очевидно, проще, когда конкретная болезнь имеет единственную причину. Сто лет назад эта концепция успешно применялась к различным инфекционным заболеваниям. Понятно, что успех воодушевил ученых применять эту концепцию к изучению тех форм патологии, для которых единственные причины еще не были выявлены, а диагностические критерии оставались неопределенными. Примером может служить шизофрения. Здесь поиск одной главной биологической или психологической причины оказался безуспешным, хотя вполне возможно, что главная причина просто остается вне исследований [2164].

Наследственные болезни с простым моногенным наследованием служат превосходными примерами успешного применения концепции моноказуальной болезни. Используя в качестве примеров мутации гемоглобиновых генов, можно показать, как генетический анализ, основанный на менделевской парадигме, не только позволил идентифицировать причины болезни, но и подготовил почву для выяснения механизмов, вследствие которых конкретные мутации вызывают нарушение функции, т.е. болезнь (разд. 4.3). Заслуживает внимания тот факт, что тяжесть моногенной болезни определяется взаимодействием с другими генами (и, возможно, со средой). Хорошо исследованным примером может служить серповидноклеточная анемия. Высокий уровень фетального гемоглобина HbF способствует более мягким клиническим проявлениям этого заболевания, и,

следовательно, различные мутации, вызывающие повышение уровня HbF (например, наследственная персистенция фетального гемоглобина), облегчают течение серповидноклеточной анемии. Однако даже небольшие изменения в районах, окружающих HbS-мутацию «серповидноклеточности» (что можно установить по ДНК-вариантам), по-видимому, существенно влияют на регуляторные сайты HbF [1344]. Так, «сенегальская» форма серповидноклеточной анемии характеризуется более высокими уровнями HbF, преобладанием HbG  $\gamma$ -цепей и более низким содержанием необратимо серповидных эритроцитов по сравнению с «бенинской» формой анемии, которая отличается лишь ДНК-гаплотипом [1233; 1232]. Другим модифицирующим фактором, который ассоциирует с менее тяжелой клинической картиной серповидноклеточной анемии, является сопутствующая  $\alpha$ -талассемия. Возможности науки выявлять конкретные генетические детерминанты, влияющие на тяжесть клинических проявлений этого заболевания, растут. Полученные в этой области знания могут быть использованы и в случае других наследственных дефектов метаболизма.

Генетическая изменчивость гемоглобинов обнаруживает еще один феномен: мутации в пределах одного и того же гена могут привести к совершенно разным фенотипам. Например, метгемоглобинемия — это другое заболевание, отличное от серповидноклеточной анемии. Наблюдались мутации и по другим сайтам того же гена, фенотипическое выражение их было иное. С другой стороны, генетическая гетерогенность в этой группе патологии, т.е. обусловленность сходных или даже идентичных фенотипов мутациями в разных генах, — также весьма распространенное явление, в силу чего разные причины могут приводить к одному и тому же конечному эффекту.

В случае хромосомных aberrаций причины многих врожденных дефектов уже идентифицированы. Хромосомные синдромы однозначно определяются структурой аномальной хромосомы, но механизмы, в силу которых эти aberrации приводят к аномальным фенотипам (т.е. путь от ге-

нотипа к фенотипу), раскрыты еще не до конца (разд. 4.7.4).

Совершенно иная ситуация складывается в случае многих заболеваний с наследственным предрасположением. Для них, как, например, в случае шизофрении, единичная причина не идентифицируется, а во многих случаях ее просто может не существовать. Один и тот же патогенетический процесс может быть запущен несколькими причинами, причем либо одной из них, либо какой-то комбинацией из нескольких. Некоторые из этих причинных факторов могут быть генетическими, другие – «средовыми», включая соматогенные (например, аллергены), или поведенческие (например, пристрастие к определенной пище или напиткам), или социальные (например, влияние родителей, школы, окружения). Часто в этих случаях первичное описание в терминах «мультифакториального наследования с (без) пороговым эффектом» (разд. 3.6.2) позволяет сделать некоторые предварительные выводы. Однако следующая цель состоит в идентификации и анализе определенных генетических и средовых компонент, влияющих на величину риска проявления заболевания. Генетическая подверженность может включать в себя разные причины и компоненты, как индивидуальные и семейные, так и те, которые обсуждаются в случае гиперлипидемии и ишемической болезни сердца (разд. 3.8.14). Нечто подобное справедливо и для диабета – болезни, названной «кошмаром медицинского генетика».

*Генетика сахарного диабета [614, 831, 862].* Все ускоряющееся и более глубокое проникновение в патогенез диабета в последние годы иллюстрирует, как все лучше мы начинаем понимать природу широко распространенных заболеваний. Раньше сахарный диабет диагностировали только по симптомам, таким, как жажда, полиурия, потеря веса, слабость и кома, в сочетании со сладкой на вкус мочой. В настоящее время для постановки диагноза анализируют уровень содержания глюкозы в крови с пороговой точкой 140 мг на 100 мл. Однако эта пороговая точка в определен-

ном смысле произвольная и поэтому создает трудности для диагностической квалификации и проблемы для генетического анализа. Сахарный диабет является весьма гетерогенным заболеванием, т.е. разные генетические, а возможно, и негенетические причины вызывают сходные клинические состояния, диагностируемые как диабет. Существуют распространенные и редкие формы диабета. Две наиболее частые формы известны как диабет типа I и II. Их можно дифференцировать по многим разным критериям (табл. 3.36). Этиология этих форм различна, и они являются определению разными генетическими формами, поскольку характер семейного накопления определяется формой диабета у пробанда. Хотя семейное накопление выражено в меньшей степени при более тяжелой форме диабета I, патофизиология этой формы исследована лучше [7576]. Все больше фактов говорит о том, что эта патология развивается вследствие вирусного поражения островков Лангерганса в поджелудочной железе, с последующей продукцией аутоантител против антигенов островковой ткани. Патологический процесс приводит к недостаточности инсулина, который вырабатывается этими клетками, и к характерной клинической картине. Однако не у каждого инфицированного соответствующим вирусом развивается диабет. Оказывается, что исход определяется генетическими детерминантами, связанными с антигенами HLA DR3 и/или DR4 [614]. Эксперименты с ДНК-зондами на HLA-район позволили выявить различия по сайтам рестрикции между больными диабетом и контрольной группой [612], но для более глубокого понимания этих фактов требуются дальнейшие исследования. Диабет I вызывается, по-видимому, вирусом, который действует на генетически восприимчивый организм и приводит к образованию противоостровковых аутоантител. Однако даже у монозиготных близнецов наблюдается лишь 50%-ная конкордантность. Это означает, что другие факторы, например различия в полученной «дозе» вируса или какие-то случайные причины, также играют важную роль в этиологии сахарного диабета.

Таблица 3.36. Две широко распространенные формы диабета (Olefsky, 1985 [831].)

	Форма I (инсулинзависимая) IDDM	Форма II (инсулиннезависимая) NIDDM
Популяционная частота	0,2–0,3%	2–4%
Доля среди всех форм диабета <sup>1)</sup>	7–10%	90–93%
Возраст начала	< 30 лет	> 40 лет
Телосложение	Худые	Тучные
Кетоацидоз	Часто	Редко
Недостаточность инсулина	Всегда	»
Терапия	Инсулин	Диета
Осложнения	Васкулопатия, нейропатия, нефропатия	Нечасто и в позднем возрасте
Конкордантность МЗ близнецов	40–50%	100%
Доля пораженных среди родственников I степени	5–10%	10–15%
HLA D3/D4-ассоциация	Да	Нет
Циркулирующие аутоантитела против клеток островков Лангерганса	»	»
Другие аутоиммунные явления	Эпизодически	»
Резистентность к инсулину	Иногда	Обычно
	противоинсулиновые антитела	пострецепторные дефекты?

<sup>1)</sup> Все другие «диабеты» очень редки: < 1%.

Диабет II – это широко распространенное заболевание, которое проявляется в среднем возрасте и при старении, но обычно в мягкой форме. Генетические факторы здесь играют важную роль, о чем свидетельствует высокая степень конкордантности монозиготных близнецов. Природа генетических факторов и тип наследования еще не установлены. Результаты некоторых исследований с использованием рестрикционного картирования инсулинового гена говорят о том, что у больных диабетом II чаще обнаруживаются гиперварибельные участки в 5'-фланкирующей области в непосредственной близости к инсулиновому гену. Заметим, однако, что эти результаты еще не подтвердились.

Существуют предположения о гетерогенности и самих отдельных форм сахарного диабета как I (с учетом разнообразия аутоиммунных проявлений), так и II (с учетом таких критериев, как, например, ожирение), но они еще не стали общепринятыми.

В отличие от диабетов I и II, тип наследования которых не является простым

менделевским, существует довольно редкая форма этого заболевания с ранним началом и мягким течением без осложнений, наследование которой соответствует простому аутосомно-доминантному типу. Первичный дефект неизвестен, но, возможно, связан с пониженной секрецией инсулина. Это состояние известно под названием MODY (от англ. Maturity Onset Diabetes of the Young – взрослый диабет молодых).

Были выявлены и другие разнообразные и очень редкие формы диабета. При некоторых из них обнаруживают мутантные инсулины с аминокислотными заменами, обуславливающими снижение активности этого гормона [867]. Как аутосомно-доминантный признак [857a] был описан случай нарушения критического для процессинга этапа преобразования проинсулина в инсулин. Однако в большей части случаев диабета структура самого инсулина остается ненарушенной.

Интенсивно изучается также функция инсулинового рецептора [861]. При некоторых редких наследственных заболеваниях типа липодистрофии и атаксии-теле-

ангиэктазии были обнаружены различные аномалии инсулиновых рецепторов в виде снижения количества самих рецепторов или уменьшения связывания инсулина.

Подобные аномалии рецепторов и пострецепторов предполагаются и для диабета, но выявить их определению еще не удалось.

*Концепция болезни и диагноз [948, 949].* Когда врач ставит диагноз, он подразумевает под нозологически единичной болезнью определенный кластер клинических симптомов и лабораторных данных. Следовательно, неявно предполагается, что существует «естественная система болезней». И действительно, такое предположение оправданно, если можно точно указать одну главную причину, как, например, при инфекционных и моногенных заболеваниях. Однако подавляющее большинство болезней определяется феноменологически или, как в случае диабета и гипертонии, в последнее время на основе количественных показателей.

Такая классификация болезней сложилась исторически и охватывает теперь нозологические единицы, которые определялись иногда произвольно, разными способами, имеют расплывчатые границы и часто перекрываются. Для медицинской практики такой подход часто оказывается успешным, поскольку подразумевается, что медицинский диагноз служит указанием на определенную терапию. Детальный анализ гетерогенности, необходимый при генетическом исследовании, для лечения может быть излишним. Следовательно, разумно и практически оправданно прекратить диагностический процесс тогда, когда уже ясно, что дальнейшие диагностические уточнения не способствуют лечению больного, ибо оно остается одинаковым независимо от тонких различий в диагнозе.

Однако такой подход может быть и ошибочным, поскольку определенная диагностическая группа может оказаться слишком общей, чтобы обеспечить дифференцированное лечение всех больных с данным диагнозом. Так, 100 лет назад понятие «лихорадка» охватывало много разных болезней, которые сегодня подраз-

деляются на категории и требуют применения разных терапевтических средств. Аналогично диагноз анемии 75 лет назад ставился всем бледным больным, у которых было слишком мало крови. Сегодня мы знаем много разных типов наследственных и приобретенных анемий, часто требующих применения различного лечения. Так, переливание крови вовсе не было панацеей для всех форм анемий: например, анемии с недостаточностью железа требуют специфического лечения железом, при пернициозной анемии применяется витамин В<sub>12</sub>, а при наследственном сфероцитозе требуется удаление селезенки. Другой пример: хотя еще и сегодня гипертонию лечат эмпирически, многими разными лекарствами, однако более глубокое понимание механизмов гетерогенности гипертонии привело бы к специфическому лечению, более подходящему для каждой определенной группы больных. Например, уже известно, что негры с гипертонией (по сравнению с белыми) лучше отвечают на диуретики, чем на  $\beta$ -блокаторы, хотя причины столь разного ответа пока еще не выяснены.

Для медицинского генетика всегда требуется очень точный клинический диагноз с особым акцентом на возможную гетерогенность, что обеспечивает большую надежность предлагаемого им генетического прогноза относительно повторных рисков, включая и пренатальный статус плода (разд. 9.1). Как уже указывалось, болезни со сходными проявлениями могут и по-разному наследоваться или вовсе никак не наследоваться, поскольку в основе их могут лежать другие – негенетические – причины.

*Нормальная изменчивость и болезнь.* Очень важно проводить различие между болезнью и крайними вариантами нормальной изменчивости. Примером может служить гипертония, которая не является болезнью (хотя часто рассматривается в качестве таковой), поскольку служит всего лишь своеобразной меткой для определенной части индивидов, уровень кровяного давления у которых выше, чем производное пороговое значение. Конечно, риск осложнений при гипертонии увеличивается с повыше-



нием уровня кровяного давления, но не существует такого порогового значения, при котором риск осложнений будет нулевым. «Диагноз» гипертонии в некотором смысле неадекватен. Гипертония — это скорее «фактор риска» для ишемической болезни сердца, инсульта и почечной недостаточности, чем болезнь.

Поскольку мы все больше узнаем о различных генетических факторах риска, усиливающих подверженность определенным заболеваниям, то возникают проблемы. Многие из нас являются носителями HLA D3/D4-детерминант, но лишь немногие из этих носителей заболевают сахарным диабетом I (разд. 3.7). Относительный риск в 8–10 раз выше, чем у лиц, у которых нет HLA-антигенов, но абсолютный риск развития диабета для носителей HLA D3/D4-вариантов остается крайне низким. У гомозигот PiZ часто будет развиваться хроническая эмфизема легких, но не все носители этого гена заболеют. Часть PiZ-гомозигот здоровы, хотя и могут заболеть в будущем.

Одна из целей медицинской генетики заключается в детальной разработке «маркерных профилей», которые помогут идентифицировать «группы высокого риска» проявления определенных болезней. Это особенно важно тогда, когда уже существуют профилактические меры, способные предупредить, сдержать проявление вредных эффектов генетического предрасположения с помощью изменения условий жизни. Этот подход является многообещающим, поскольку развитие болезни часто обусловлено взаимодействием факторов генетической восприимчивости и собственно средовых факторов. Такая профилактическая медицина будет «сделана по заказу» в соответствии с уникальным генотипом того или иного индивида, она не будет направлена на популяцию в целом.

Создание научной основы для разработки рекомендаций подобного рода является конкретной целью экзогенетики. Теория болезней должна трансформироваться в теорию сохранения здоровья.

### **3.8.14. Современное представление о генетике широко распространенных болезней [808, 810]**

Генетические синдромы, вызываемые хромосомными aberrациями и мутациями отдельных менделевских генов, изучены относительно хорошо. Их патогенез можно раскрыть благодаря изучению действия отдельных генов (см. разд. 4) или опираясь на анализ того, как явные хромосомные дефекты приводят к нарушению развития (см. гл. 2). Есть данные, свидетельствующие о том, что семейное накопление наблюдается при многих заболеваниях. Однако, чтобы доказать, что семейное накопление обусловлено общими генами, а не общей семейной средой, необходимо провести соответствующие исследования (см. разд. 3.6).

Разработан ряд экспериментальных подходов для того, чтобы отличить эффекты среды от эффектов наследственности. Такие подходы включают сравнительное изучение монозиготных близнецов с раздельным воспитанием партнеров или сравнительный анализ частоты заболеваний у кровных и приемных родственников приемных детей (см. разд. 8). Если идентичные близнецы даже в разных средах обнаруживают более высокую конкордантность, чем ДЗ близнецы в сходных средах, естественно предположить, что эта конкордантность обусловлена генетическими, а не средовыми факторами. Аналогично если приемные дети оказываются более сходными со своими биологическими, а не приемными родственниками, то в этом случае можно определенно говорить об эффектах генетических факторов. Иногда также сравнивают частоту признака или болезни у супругов, которые живут в общей среде, с частотой среди кровных родственников, у которых общими являются как наследственность, так и среда. Отсутствие корреляции между супругами и наличие ее между кровными родственниками также свидетельствуют в пользу значимости генетических факторов.

Основываясь на данных различных исследований этого типа, можно считать, что роль генетических факторов оказывается



**Рис. 3.74.** Концептуальная модель причин мультифакториального заболевания. В отличие от традиционных моделей подчеркивается важность главных генов.

значительной для следующих заболеваний:

1) широко распространенные врожденные пороки (т. е. дефекты нервной трубки, расщелины губы и нёба, косолопость, врожденные пороки сердца и другие);

2) широко распространенные психические заболевания (шизофрения и аффективные заболевания);

3) широко распространенные болезни среднего возраста (диабет, гипертония, ишемическая болезнь сердца).

Результаты семейных исследований этих заболеваний не согласуются с простым менделевским наследованием. Анализ, основанный на различных полигенных моделях, позволил сделать вывод о том, что в этиологию этих болезней вовлечены многие неспецифические гены, действующие вместе со средовыми факторами. Первичный биологический эффект этих генов остается неизвестным и рассматривается как «черный ящик». Обычно считают, что количество генов относительно велико и что вклад в патогенез болезни каждого из вовлеченных индивидуальных генов относительно мал, т. е. предполагается аддитивное действие этих генов. В случаях когда болезнь проявляется как качественный признак с двумя альтернативными классами «норма» и «пораженные» (например, как при врожденных уродствах), предполагается наличие порога. Считается, что если сумма факторов, действующих на индивид, превышает этот порог, то заболевание проявляется. В других случаях, когда число генов недостаточно и значение подверженности индивида оказывается меньше порогового, но вблизи него, это может проявляться не как болезнь, а скорее как отклонение.

Наша концепция мультифакториального наследования схематически изображена на рис. 3.74. Нам хотелось подчеркнуть потенциальную роль одного или нескольких главных генов для многих предположительно мультифакториальных признаков. Для широко распространенных заболеваний особенно вероятно, что достаточно малое число потенциально идентифицируемых главных генов может определять основной вклад в генетическую этиологию и объяснять преобладающую часть генетической изменчивости. Такие гены не действуют в вакууме. Считается, что совокупность всех других генов, против которых действуют главные гены, образует «генетический фон». Хорошо известно, что генетический фон может модифицировать экспрессию главных генов (разд. 3.1.7).

В случае врожденных дефектов определенную роль могут играть и случайные факторы [919]. Их нельзя назвать ни генетическими, ни чисто средовыми, они действуют стохастически. Например, можно себе представить, что некоторые пороки сердца возникают вследствие чисто случайной утраты синхронности в сложной динамической последовательности его сжатий и расширений. Таким образом, относительно низкую конкордантность генетически детерминированных врожденных дефектов у МЗ близнецов можно по крайней мере частично объяснить случайными факторами. Другие факты дискордантности можно связать, как уже упоминалось ранее, с синдромом «переливания», иногда наблюдаемого у МЗ близнецов.

Наиболее вероятно, что плодотворность дальнейших исследований по генетике широко распространенных заболева-

ний будет определяться детальным изучением индивидуальных генов на основе комплекса генетических, биохимических, иммунологических, клинических и статистических методов. Биометрический подход сам по себе вряд ли может создавать новое знание.

#### *3.8.14.1. Биологические и патофизиологические подходы к генетической этиологии широко распространенных заболеваний*

*Анализ гетерогенности. Идентификация моногенных форм.* Часто возникает необходимость обосновать с помощью соответствующих клинических, лабораторных и генетических методов выделение в пределах мультифакториальных заболеваний редких вариантов как самостоятельных форм патологии с четким менделевским наследованием. Вполне успешно это было осуществлено в отношении, например, X-сцепленной недостаточности гипоксантин-фосфорибозил—трансферазы (HPRT) при подагре [737] и семейной гиперхолестеринемии при ишемической болезни сердца [686].

*Клиническая популяционная генетика.* В пределах гетерогенных заболеваний, таких, как умственная отсталость [835], глухота [669], слепота [670] и ишемическая болезнь сердца [686], на основе клинических, лабораторных и семейных исследований репрезентативных выборок пробандов можно отделить семейные случаи от спорадических. С другой стороны, статистический и биохимический анализ спорадических случаев позволяет идентифицировать определенные варианты с аутосомно-рецессивным наследованием. В пределах семейных форм также можно выявить генетическую гетерогенность, обусловленную как разными вариантами простого моногенного наследования в одних случаях, так и клиническими формами с мультифакториальным наследованием в других. Такие семейные исследования больших групп больных наиболее информативны, конечно,

если они используют одновременно самые современные лабораторные методики.

*Поиск биологической гетерогенности.* Генетики должны быть осведомлены о достижениях биомедицинских исследований тех заболеваний, которыми они интересуются. Весьма желательно включение в генетические исследования новейших биохимических и молекулярных методов. Равным образом тем, кто интересуется патофизиологией и биохимией конкретного заболевания, часто может помочь генетически ориентированное исследование данной патологии.

*Полиморфизм и болезни.* Некоторые высокополиморфные гены человека могут быть частью генетической компоненты дифференциальной подверженности заболеванию. В качестве примера можно привести зависимость от малярии полиморфизм HbS,  $\beta$ -талассемии, недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (G6PD), а также антиген Даффи [1952]. Ассоциации аллелей HLA-системы с некоторыми заболеваниями часто представляют особый интерес и могут быть связаны с различиями в иммунном ответе на собственные антигены [48]. С патофизиологической точки зрения ассоциации различных заболеваний с группами крови ABO менее ясны [211]. Наиболее успешным подходом к использованию полиморфных маркерных генов будет тот, который ориентируется на маркеры, патофизиологически связанные с заболеванием. Случайные генетические маркеры, исследуемые при случайно выбранных заболеваниях, вряд ли приведут к получению значимых результатов.

*Гетерозиготы по редким патологическим мутациям могут быть особенно предрасположены к проявлению функционально родственных мультифакториальных заболеваний.* Даже в случае редкой аутосомно-рецессивной патологии в популяции имеется много гетерозигот (табл. 3.6). Такие гетерозиготы могут обладать высоким риском проявления того или иного мультифакториального заболевания, патофизиологически связанного с данным фер-

ментативным дефектом [1340]. В качестве примера приведем гетерозигот с редкой аутосомно-рецессивной меттемоглобинемией: у них этот признак не проявляется, пока они не принимают лекарств, индуцирующих образование меттемоглобина. Гомозиготы по нормальному аллелю синтезируют меттемоглобин-редуктазу в количестве, достаточном для снижения уровня меттемоглобина, индуцированного лекарством. В то же время гетерозиготы синтезируют этот фермент в достаточном количестве (50% от нормы) только при обычных условиях, но когда содержание меттемоглобина повышается под действием лекарственной терапии, фермента не хватает.

Другими примерами высокой подверженности гетерозигот патологии служат повышенная частота рака среди гетерозигот с атаксией-телеангиectазией и синдромом Блума (разд. 5.1.6) и повышенная частота гетерозигот по недостаточности  $\alpha_1$ -антитрипсина среди больных хронической эмфиземой легких [749] (разд. 3.7.4).

#### 3.8.14.2. Генетика ишемической болезни сердца (ИБС) [847; 827; 570]

Частота ишемической болезни сердца весьма варьирует в разных частях света. Самая высокая частота этого признака характерна для «западных» стран [580]. В экономически слабонабразвитых популяциях частота этого заболевания очень низкая. В США на протяжении многих лет смертность от ИБС увеличивалась, однако в последние 15 лет — существенно снизилась. Это свидетельствует о сильном влиянии средовых факторов [763]. Важную роль среды обнаруживает также возрастающий уровень ИБС среди мигрантов из стран с низкой частотой (например, из Японии) при их переезде в регионы с высокой частотой (например, в США) [730].

Генетически ориентированные исследования атеросклероза имеют своей целью: а) выявить генетические различия между индивидами, предрасположенными к атеросклерозу; б) разделить генетические детерминанты от средовых и в) идентифицировать группы с высоким риском раз-

вития атеросклероза для проведения в них профилактических мероприятий. С развитием исследований, использующих соответствующие генетические и другие «маркеры», оказалось возможным идентифицировать все большее число лиц, генетическая конституция которых делает их более восприимчивыми к определенным средовым факторам (включая диету), способствующим развитию коронарного атеросклероза. Данные близнецовых исследований показали, что конкордантность по ИБС значительно выше среди МЗ близнецов, чем среди ДЗ [2297]. Однако такие исследования сталкиваются с недостаточной надежностью клинического диагноза заболевания. Идеальное близнецовое исследование ИБС должно быть основано на данных ангиографии (или какой-то неинвазивной методики контрастирования коронарных сосудов), более надежно оценивающей степень развития коронарного атеросклероза.

Относительно данных о семейном накоплении при коронарном атеросклерозе практически нет разных мнений. Частота ИБС примерно в 2–6 раз выше в семьях больных по сравнению с контрольными семьями (литература по этому вопросу можно найти в [570; 650; 701; 858; 902]). Заслуживают внимания следующие факты, касающиеся характера семейного накопления повторных случаев ИБС.

1. Семейное накопление выражено сильнее в семьях более молодых пробандов с ИБС, т.е. при ранней ишемической болезни сердца.

2. Хотя у женщин частота ИБС ниже, чем у мужчин, для пораженных женщин характерно более выраженное семейное накопление, чем для мужчин, т.е. реже поражаемый пол имеет больший генетический «груз» (разд. 3.6.2).

3. Как свидетельствуют последние работы, семейный анамнез ранней ИБС (с началом до 55 лет) оказывается наиболее важным фактором риска для ИБС, т.е. более значимым, чем все другие факторы риска (см. ниже [830]).

4. Гиперлипидемия, гипертония и диабет, сами в большой степени наследственно обусловленные, также являются факторами

риска для ИБС. Однако данные многих разных исследований свидетельствуют о том, что в целом семейное накопление при ИБС нельзя объяснить только этими тремя хорошо известными генетическими факторами риска [650, 830, 909]. Имеются дополнительные семейные факторы, которые вносят свой вклад в семейное накопление.

5. Семейное накопление признака не обязательно подразумевает его генетическую детерминацию. Обычно члены одной семьи живут в сходной среде, которая может содержать агенты, провоцирующие проявление ИБС у восприимчивых и предрасположенных членов семьи. Представляет интерес, что в отношении факторов риска для ИБС доказана ассортативность браков: в семьях супругов обнаруживается та же частота случаев ИБС, что и в семьях пробандов; супруги пробандов также страдают ИБС чаще, чем случайные индивиды в контрольной популяции [908]. Ассортативность брака проявляется в предпочтительной принадлежности обоих супругов к одному социальному слою, в одинаковости стиля жизни, традиций питания, курения и т.д. Следовательно, весьма вероятно, что существенная часть семейного накопления опосредована общесемейными средовыми факторами. Кроме того, могут иметь место сложные генотип-средовые взаимодействия.

6. Независимо от конкретной природы различных факторов риска – генетических или средовых, вовлеченных в подверженность при ИБС, семейный анамнез ранних форм ИБС позволяет идентифицировать индивидов и семьи с высоким риском с целью проведения мероприятий по предупреждению ишемической болезни сердца.

*Факторы риска.* Для идентификации ряда факторов риска коронарного (и cerebro-vasкулярного) атеросклероза было проведено обширное эпидемиологическое исследование. Особенно важными факторами риска являются возраст, мужской пол, гипертония, гиперхолестеринемия, низкие уровни липопротеинов высокой плотности (HDL – high density lipoprotein) и диабет [903].

Другими факторами риска, вовлеченными в общую систему подверженности ИБС, являются гипертриглицеридемия, высокие уровни аполипопротеина В, низкие уровни аполипопротеина А-1, малоподвижный образ жизни, ожирение и определенные личностные особенности. Предполагают, что некоторые врожденные особенности строения сосудов и эластичных мышечных клеток в сосудистой стенке вносят свой вклад в подверженность ИБС [903].

Эти данные указывают на мультифакториальный характер этиологии ишемической болезни сердца. Изучая характер и степень генетической детерминации тех или иных факторов риска, среди них можно выявить собственно генетические факторы заболевания.

*Гиперлипидемии* (см. табл. 3.37). Современные данные говорят о том, что гиперхолестеринемия и низкий уровень липопротеинов высокой плотности (HDL) представляют собой очень важные факторы риска [723]. Гипертриглицеридемию обычно не рассматривают как независимый фактор [718]. Среди наследственных гиперлипидемий следует дифференцировать несколько форм.

*Семейная гиперхолестеринемия* [671, 685, 875]. Наиболее хорошо изученным заболеванием является аутосомно-доминантная семейная гиперхолестеринемия (разд. 4.6) с частотой гетерозигот (в США) примерно 1/500 (см. разд. 5.2.1.5). Для гетерозигот характерно повышение уровня как общего холестерина, так и холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL – low density lipoprotein). Среди пораженных мужчин 50% проявляют ИБС в возрасте до 50 лет. Клинические симптомы ИБС у женщин обнаруживаются на 10–15 лет позже. Другие факторы риска, такие, как гипертония, курение, низкий уровень HDL, взаимодействуют с геном семейной гиперхолестеринемии и провоцируют более раннее проявление симптомов атеросклеротического процесса. Гомозиготы встречаются крайне редко. В этом случае ИБС можно обнаружить уже до 20 или 30 лет жизни. Семейная гиперхолестеринемия распрост-

**Таблица 3.37.** Широко распространенные гиперлипидемии, ассоциирующиеся с ишемической болезнью сердца

Название	Частота	Физиологическое нарушение	Дефект	Генетика	Частота инфарктов миокарда	
					прожившие менее 60 лет	средний возраст <sup>1)</sup>
Семейная гиперхолестеринемия	1/500	Сниженное расщепление LDL	Аномальный рецептор LDL	Аутосомно-доминантный	3–6%	46 лет
Подигенная гиперхолестеринемия	5%			«Подигенный»	Возрастает	58 лет
Семейная комбинированная гиперлипидемия	0,3–1%	Повышенный синтез apo B		Аутосомно-доминантный	11–20%	52 года
Семейная гипертриглицеридемия	1%	Повышенный синтез VLDL		Аутосомно-доминантный	4–5%	57 лет
Гиперлипидемия (болезнь потери ремнантов)	1/10 000	Сниженный катаболизм ремнантов	Аномальное связывание и дополнительные факторы	Гомозиготы по Apo E <sub>2</sub>	1–2%	50–60 лет

LDL – липопротеины низкой плотности, VLDL – липопротеины очень низкой плотности.

<sup>1)</sup> средний возраст больных мужского пола с инфарктом миокарда.

ранена во многих странах и популяциях. Лабораторная диагностика заболевания трудна, поскольку общедоступный тест для постановки окончательного диагноза пока отсутствует. Специальные тесты на состояние функции рецепторов могут быть выполнены лишь на базе исследовательской лаборатории (разд. 5.2.1.5).

Семейную гиперхолестеринемию следует отличать на основе клинических, лабораторных и генетических критериев от различных других гиперхолестеринемий, связанных с иными приобретенными или генетическими нарушениями. Примерно 1 из 25 индивидов с высоким уровнем холестерина – носитель гена семейной гиперхолестеринемии. При этом около 3–8% больных мужчин в возрасте 60 лет и моложе с инфарктом миокарда являются гетерозиготами по гену семейной гиперхолестеринемии (табл. 3.37). При снижении возраста, в котором происходит первый инфаркт миокарда, частота гетерозигот в

такой группе больных мужчин увеличивается.

*Изоаллели для LDL рецепторов?* Изучение семейной гиперхолестеринемии имеет прикладное значение с точки зрения контроля за уровнем холестерина. Весьма вероятно, что существуют аллели, каждый из которых определяет тот или иной тип LDL-рецепторов с разным аффинитетом к LDL [771; 933]. Вследствие этого носители аллелей с низкой способностью к LDL-связыванию будут иметь более высокий уровень LDL-холестерина, чем носители рецепторов, которые связывают больше LDL-холестерина. Предполагается, что содержание LDL-холестерина у жителей западных стран превышает уровень насыщения, присущий рецепторам с низкой способностью к связыванию, что как раз и вызывает атеросклероз [684]. Такая система изоаллелей может по крайней мере частично объяснить нормальный диапазон

уровней холестерина и наблюдаемые корреляции сибс—сибс и родитель—ребенок (но не супруг—супруг) по уровню холестерина [727]. Подобная изоаллельная изменчивость может лежать и в основе полигенной гиперхолестеринемии.

*Семейная комбинированная гиперлипидемия.* Исследования пробандов с гиперлипидемиями привели к выделению ряда самостоятельных семейных форм, при которых обнаруживается либо повышение уровней как холестерина, так и триглицеридов (тип II b), либо повышение уровня только холестерина (тип II) или только триглицеридов (тип IV). Эти нарушения называют иногда «множественной липопротеиновой гиперлипидемией» (семейная комбинированная гиперлипидемия), которая, вероятно, широко распространена в общей популяции (частота 1/100–1/300) [583]. Оказалось, что этот признак сегрегирует как менделевский, но в субпопуляции индивидов до 30 лет обнаруживает неполную пенетрантность, в силу чего его выявление требует обширных семейных исследований. Описано несколько больших родословных с этим признаком. Недавно было высказано предположение, что повышение уровня аполипопротеина В является более подходящим маркером, чем другие характеристики липидов. Применение этого маркера позволит проще и точнее диагностировать семейную комбинированную гиперлипидемию [712]. Повышенное содержание аполипопротеина В выявляется примерно у 10% больных с инфарктом миокарда в возрасте до 60 лет. При исследовании семей пробандов с этой формой гиперлипидемии, но без инфаркта миокарда обнаружена поразительно высокая частота ранних случаев ИБС среди родственников [594].

*Семейная гипертриглицеридемия.* Некоторые авторы предположили существование достаточно распространенного аутосомно-доминантного признака, связанного с высоким уровнем только триглицеридов. У детей его не обнаружили. Можно, однако, оспаривать связь данного признака с ИБС. Его изучение сталкивается с трудностями, обусловленными большой изменчивостью

уровня триглицеридов, на содержание которых влияют многие факторы, включая пищевую рацион и алкоголь. Многие исследователи сомневаются в том, что изолированная гипертриглицеридемия любого типа может быть фактором риска для ишемической болезни сердца [718]. Для обсуждаемого варианта аутосомно-доминантной гипертриглицеридемии какой-либо первичный дефект пока не выявлен.

*Дисбеталипопротеинемия типа III.* Дисбеталипопротеинемия этого типа бывает только у гомозигот по соответствующему аллелю аполипопротеина E<sub>2</sub> (генотип E<sub>2</sub>/E<sub>2</sub>), который обнаруживается примерно у 1% лиц европейских популяций. Для проявления этого заболевания необходимы дополнительные факторы, повышающие уровень липидов, например семейная комбинированная гиперлипидемия или различные вторичные формы гиперлипидопропротеинемии. Следовательно, это заболевание – результат взаимодействия двух генетических аномалий или генетических и приобретенных нарушений. Хотя частота лежащего в основе признака генетического полиморфизма довольно высокая (1%), само заболевание редкое (1/10 000).

*Ассоциации ишемической болезни сердца с генетическими маркерами* [570, 801]

*Белковые маркеры.* Полиморфные генетические системы, биохимически и патофизиологически связанные с болезнью, служат «генетическим фоном», который повышает вероятность для определенных индивидов оказаться пораженными. Анализ таких полиморфизмов может привести к идентификации группы маркеров, которые вносят существенный вклад в подверженность заболеванию. При коронарном атеросклерозе исследовали много разных маркеров. Вклад большинства из них в этиологию невелик. У индивидов с группой крови А с большей вероятностью может образоваться в сердце тромб; более высок у них и уровень холестерина. Минорные эффекты повышения уровня холестерина связаны с несекреторным геном, генами гаптоглобина 2 и Gm<sup>h</sup>-генами. Генетический

вариант липопротеина  $\text{Lp}^+$  (родственного, но отличного от LDL-липопротеина) обнаруживается с более высокой частотой (в 2-3 раза) среди больных ИБС в скандинавских странах. Лица с  $\text{Lp}^+$ , так же как и лица с  $\beta$ -липопротеиновым вариантом  $\text{AgX}^-$ , имеют более высокий уровень холестерина. У индивидов с  $\text{AgX}^+$  содержание холестерина ниже.

Генетический полиморфизм, затрагивающий аполипопротеин (локус E расположен в хромосоме 19), оказывает существенное влияние на уровни липидов [874]. Гомозиготы  $\text{E}_2/\text{E}_2$  и частично  $\text{E}_2$ -гетерозиготы имеют более низкий уровень холестерина, чем индивиды с другими генотипами. Влияние соответствующих аллелей на частоту гиперлипидемии и ИБС еще не вполне очевидно [916; 786; 2372]; убедительные различия не выявлены, а интерпретация данных затруднена, поскольку генотип  $\text{E}_2/\text{E}_2$  ассоциирует с гиперлипидемией типа III (или болезнью утраты ремнантов), которая представлена в группе больных с ИБС с высокой частотой.

*ДНК-маркеры* [560; 953]. Интенсивные исследования по молекулярной генетике аполипопротеинов и ферментов, вовлеченных в метаболизм липидов, привели к созданию ДНК-зондов для многих из этих генов. Зонды используются с разными целями. Сцепленный с локусом LDL-рецептора полиморфизм по длине рестрикционных фрагментов [719] оказывается полезным для доклинической диагностики в тех семьях, в которых данные о повышении холестерина остаются не совсем ясными для интерпретации, но имеется по крайней мере один надежно диагностированный больной. Таким способом можно продемонстрировать и изоаллельную изменчивость LDL-рецептора (см. выше). Прямые диагностические зонды для дефектных генов LDL-рецепторов пока еще отсутствуют, и их создание представляет собой проблему (4.6.4).

Различные аполипопротеиновые зонды используют для изучения популяций больных гиперлипидемией и ИБС [916, 917]. Полиморфизм ДНК, связанный с AI—

—CIII-локусом (хромосома 11), чаще обнаруживается при неспецифицированных триглицеридемиях [851] и у переживших инфаркт миокарда [660]. Вот почему предполагают, что один из вариантов кластера аполипопротеиновых генов ( $\text{A}_1\text{CIII}$ ), тесно сцепленный с этим ДНК-маркером, способствует проявлению гиперлипидемии и ИБС. Описана вставка в пределах локуса AI—CIII, которая в гомозиготном состоянии обуславливает тяжелую форму ИБС вследствие значительного снижения уровня HDL [891]. С другой стороны, был обнаружен ДНК-маркер, который сегрегирует совместно с геном аполипопротеина AII (в хромосоме 1) [864]. Поскольку уровень аполипопротеина AII связан с реакцией HDL на диету, то с помощью данного маркера можно идентифицировать индивидов, резистентных к атеросклерозу. Недавно был клонирован ген аполипопротеина B [626], что позволит осуществить в дальнейшем множество исследований по генетике этого важного липопротеина. Ожидается, что будет выяснена природа некоторых «полигенных» гиперлипидемий, возникающих за счет полиморфизма различных генов аполипопротеинов, ферментов и рецепторов, а также благодаря взаимодействию этих генов.

Исследования, которые заключаются в сравнении частоты полиморфизма длины рестрикционных фрагментов у больных и в контроле, следует интерпретировать осторожно, в особенности если большие различия не обнаружены. Важно помнить, что доказать этническую идентичность контрольной популяции довольно трудно, а малые различия в генных частотах, обусловленные как разным происхождением генов, так и случайными флуктуациями, могут приводить к самым неожиданным результатам.

*Уровни липопротеинов высокой плотности (HDL)* [653]. Низкий уровень HDL плазмы рассматривается как фактор повышенного риска для ишемической болезни сердца на популяционном уровне. Аутосомно-доминантный тип наследования низкого уровня HDL был обнаружен в большой родословной с ИБС. С другой стороны, описаны



родословные с высоким уровнем HDL и необычно большой продолжительностью жизни. Пока неизвестно, обусловлен ли этот фенотип одним геном или мультифакториальной системой [724]. На основании ряда близнецовых и семейных исследований можно сделать вывод, что уровень HDL генетически детерминирован, однако в какой степени — остается неясным.

*Генетические факторы, отличные от липидов.* Факт семейного накопления при ишемической болезни сердца без повышения уровня липидов предполагает наличие генетических и средовых факторов, которые не влияют на их содержание. Чтобы обнаружить такие факторы, необходима очень большая работа. Реакция кровеносных сосудов на атерогенные стимулы и выявление генов, вовлеченных в детерминацию гипертонии (как фактора риска для ИБС), — вот лишь немногие возможные области дальнейших исследований.

*Приложения.* Можно ли предупредить ранние формы ишемической болезни сердца? Факт снижения смертности от этих заболеваний за последние 15 лет в США означает, что на их проявление влияют различные изменения среды. Следовательно, необходимо обратить особое внимание на разработку методов идентификации групп высокого риска.

Гипертония является важным фактором риска как для ИБС, так и для цереброваскулярных нарушений. Поскольку этот признак легко регистрируется, целесообразно проводить популяционный скрининг. Гипертония — семейное заболевание, поэтому выявление гипертоников обязательно должно сопровождаться обследованием родственников первой степени родства [596].

Сплошной популяционный скрининг на гиперлипидемию по показателям уровней холестерина и триглицеридов в настоящее время вряд ли оправдан. Действительно, если в качестве границ выбирать верхний 5%-ный уровень триглицеридов или холестерина, то будет идентифицировано огромное количество гиперлипидемиков. Однако точный порог для выявления оп-

ределенной группы риска (например, по ИБС) неизвестен, поскольку повышение риска происходит плавно. (Правда, в медицинской генетике уже имеются прецеденты использования произвольного порога, например, в случае амниоцентеза у беременных женщин старше 35 лет с целью выявления трисомии по 21 хромосоме.) Можно также измерять уровни HDL и разработать алгоритм идентификации и терапевтического контроля для группы лиц с высоким риском проявления атеросклероза. Однако длительное лекарственное вмешательство вновь поднимает вопрос об отдаленных последствиях. Для разработки различных профилактических мероприятий необходимы широкомасштабные долговременные исследования.

В Финляндии [845] и Станфорде (Калифорния) [658] с помощью средств массовой информации (газеты, телевидение, радио) пропагандируются прекращение курения, разумная диета, гимнастика и мониторинг кровяного давления. Такие мероприятия адресованы всей популяции, но их трудно проводить в течение длительного времени.

Возможен целевой скрининг [575] индивидов с семейным анамнезом ишемической болезни сердца. Например, школьникам можно раздать анкеты с вопросами к их родителям относительно наличия в семье случаев ИБС с целью идентификации семей с высоким риском. Такой подход правомерен, однако при его использовании встает проблема конфиденциальности медицинской информации.

Целевой скрининг, основанный на клиническом диагнозе ранней ишемической болезни сердца, уже осуществим и настоятельно рекомендуется [829]. Такой скрининг означает исследование родственников пробандов с ИБС на липиды и гипертонию. Этот «ретроспективный», относительно простой тип скрининга и регистрации больных можно проводить постоянно, предварительно обучив этому врачей. Поскольку многие пробанды-больные будут выявляться в больницах, медицинскому персоналу следует прививать представление о желательности подобных начинаний.

Цель хорошо организованного общест-

венного здравоохранения должна заключаться в координации биохимической и генетической диагностики с популяционными исследованиями. По мере накопления конкретных знаний должны разрабатываться различные профилактические мероприятия.

Иногда может оказаться оправданным «лечение» каждого независимо от диапазона варьирования генетической воспри-

имчивости, как это было в случае обработки воды фтором для предупреждения кариеса или при вакцинации против различных инфекционных заболеваний. Однако по мере усложнения профилактических мероприятий становится целесообразным использовать те подходы, которые акцентируют внимание на малых субпопуляциях с высоким генетическим риском.

# Оглавление

<b>Предисловие редакторов перевода</b>	5	2.2. Хромосомные заболевания человека	62
<b>Предисловие ко второму изданию</b>	7	2.2.1. Синдромы, связанные с аномалиями числа хромосом	62
<b>Предисловие к первому изданию</b>	9	2.2.2. Синдромы, связанные со структурными аномалиями аутосом	71
<b>Введение</b>	10	2.2.3. Половые хромосомы	97
<b>1. История генетики человека</b>	20	2.2.4. Хромосомные aberrации и спонтанные аборт	111
1.1. Греки	20	2.3. Организация генетического материала в хромосомах человека	114
1.2. Ученые до Менделя и Гальтона	21	2.3.1. Структура хроматина	114
1.3. Работа Гальтона «Наследование таланта и характера»	23	2.3.2. Генетический код	121
1.4. Работа Грегора Менделя	24	2.3.3. Тонкая структура генов человека: «Новая генетика»	122
1.5. Прикладные исследования применительно к человеку: «врожденные ошибки обмена веществ» по Гэрроу	25	2.3.4. Динамичность генома	140
1.6. Видимые носители генетической информации: ранние исследования хромосом	26	2.3.5. Геном митохондрий	146
1.7. Первые достижения в области генетики человека	27	2.3.6. Новая генетика и концепция гена	148
1.7.1. Группы крови АВО	27	<b>3. Формальная генетика человека</b>	151
1.7.2. Закон Харди—Вайнберга	28	3.1. Менделевские типы наследования и их приложение к человеку	151
1.7.3. Достижения генетики человека в период 1910—1930 гг.	28	3.1.1. Кодоминантный тип наследования	152
1.8. Генетика человека, евгеника и политика	28	3.1.2. Аутосомно-доминантный тип наследования	153
1.8.1. Великобритания и США	28	3.1.3. Аутосомно-рецессивный тип наследования	158
1.8.2. Германия	29	3.1.4. Х-сцепленные типы наследования	162
1.8.3. Советский Союз	30	3.1.5. Родословные, не соответствующие простым типам наследования	167
1.8.4. Генетика поведения человека	30	3.1.6. «Летальные факторы»	168
1.9. Развитие медицинской генетики (с 50-х гг. по настоящее время)	31	3.1.7. Гены-модификаторы	170
1.9.1. Генетическая эпидемиология	31	3.1.8. Количество известных заболеваний человека с простым типом наследования	173
1.9.2. Биохимические методы	31	3.2. Закон Харди—Вайнберга и его приложения	175
1.9.3. Индивидуальные биохимические различия	31	3.2.1. Формулировка и вывод закона	175
1.9.4. Цитогенетика, генетика соматических клонков, пренатальная диагностика	32	3.2.2. Соотношения Харди—Вайнберга доказывают генетическую основу группы крови системы АВО	176
1.9.5. Методы исследования ДНК в медицинской генетике	33	3.2.3. Генные частоты	179
1.9.6. Нерешенные проблемы	34	3.3. Статистические методы формальной генетики: анализ сегрегационных отношений	180
<b>2. Хромосомы человека</b>	35	3.3.1. Сегрегационные отношения как вероятности	180
2.1. Цитогенетика человека—запоздавшее, но счастливое рождение	35	3.3.2. Простые вероятностные проблемы в генетике человека	181
2.1.1. История развития цитогенетики человека	36		
2.1.2. Нормальный кариотип человека в митозе и мейозе	41		

3.3.3. Тестирование сегрегационных отношений в отсутствие смещений, связанных с регистрацией: кодоминантное наследование	182	3.6. Условия и ограничения генетического анализа у человека мультифакториальное наследование	230
3.3.4. Тестирование сегрегационных отношений: редкие признаки	183	3.6.1. Уровни генетического анализа	230
3.3.5. Дискриминация клинико-генетических вариантов: генетическая гетерогенность	186	3.6.2. Мультифакториальное наследование в комбинации с пороговым эффектом	249
3.3.6. Заболевания со сложным типом наследования	187	3.7. Генетический полиморфизм и патология	260
3.4. Сцепление: локализация генов на хромосомах	191	3.7.1. Новая стратегия исследований	260
3.4.1. Классические подходы в экспериментальной генетике: эксперименты по скрещиванию и гигантские хромосомы	191	3.7.2. Ассоциация заболеваний с группами крови	261
3.4.2. Анализ сцепления у человека: классический метод родословных	193	3.7.3. Система HLA и заболевания	267
3.4.3. Анализ сцепления у человека: гибридизация клеток и ДНК-технология	199	3.7.4. Полиморфизм L <sub>1</sub> -антитрипсина и патология	272
3.5. Тесно сцепленные и функционально родственные гены	206	3.8. Концепция: природа-воспитание. Близнецовый метод	275
3.5.1. Некоторые примсры из экспериментальной генетики	206	3.8.1. Исторические замечания	275
3.5.2. Некоторые особенности генетической карты человека	207	3.8.2. Исходная концепция	276
3.5.3. Почему существуют кластеры генов?	208	3.8.3. Биология близнецовости	276
3.5.4. Группы крови: Rh-комплекс, неравновесие по сцеплению	209	3.8.4. Ограничения близнецового метода	280
3.5.5. Главный комплекс гистосовместимости (МНС)	213	3.8.5. Диагностика зиготности	283
3.5.6. Генетическая детерминация мимирии у бабочек	223	3.8.6. Применение близнецового метода для анализа альтернативных признаков	283
3.5.7. Гены X-хромосомы человека, имеющие родственные функции	225	3.8.7. Пример: проказа в Индии	284
3.5.8. Неравный кроссинговер	227	3.8.8. Близнецовые исследования других широко распространенных заболеваний	286
		3.8.9. Близнецовый метод в изучении признаков с непрерывным распределением	288
		3.8.10. Значения оценок наследуемости: данные по росту	288
		3.8.11. Метод близнецовых семей	291
		3.8.12. Метод контроля по партнеру	292
		3.8.13. Вклад генетики человека в теорию болезней	292
		3.8.14. Современное представление о генетике широко распространенных болезней	297

## УВАЖАЕМЫЙ ЧИТАТЕЛЬ!

Ваши замечания о содержании книги, ее оформлении, качестве перевода и другие просим присылать по адресу:

129820, Москва,  
1-й Рижский пер., д. 2  
издательство «Мир».

УЧЕБНОЕ ИЗДАНИЕ

Фридрих Фогель, Арно Мотульски

## ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА

В 3-х томах

Том I

Заведующий редакцией

чл.-корр. АН СССР Т. М. Турпиев

Зам. зав. редакцией М. Д. Гроздова

Ст. научн. редактор М. Р. Погосбекова

Мл. редакторы О. В. Шагинян, И. А. Деменцова

Художник В. Е. Карпов

Художественные редакторы А. Я. Мусин, Л. М. Аленичева

Технический редактор М. А. Страшинова, А. Л. Гулина

Корректор В. И. Киселева

ИБ № 6771

Сдано в набор 15.06.88. Подписано к печати 24.02.89.  
Формат 70 × 100<sup>1/16</sup>. Бумага офсетная № 1. Печать  
офсетная. Гарнитура таймс. Объем 9,75 бум.л.  
Усл.печ. л. 25,35. Усл.кр.-от. 51,35. Уч.изд. л.  
30,74. Изд. № 4/5977. Тираж 38 000 экз. Зак. 730.  
Цена 2 руб. 60 коп.

Издательство «Мир» В/О «Совэксспорткинига» Государственного комитета СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли  
129820, ГСП, Москва, И-110, 1-й Рижский пер., 2

Можайский полиграфкомбинат В/О «Совэксспорткинига» Государственного комитета СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли.  
г. Можайск, ул. Мира, 93.

**Имеются в продаже следующие книги  
издательства «Мир»**

1. Иммунологические методы исследований. Под ред. И. Лефковитса. Пер. с англ., Вып. 3. «Мир», 1988. 3–60.
2. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды. Пер. с англ., «Мир», 1987 г., 1 р. 60 к.
3. Фотосинтез в 2-х т. Под ред. Говинджи. Пер. с англ., «Мир», 1987 г., 11 р. 20 к. за комплект.
4. Хорн Г. Память, импринтинг и мозг: исследование механизмов. Пер. с англ., «Мир», 1988 г., 4 р.
5. Шеперд Г. Нейробиология в 2-х т. Пер. с англ., «Мир», 1987 г., 4 р. 70 к.

Обращайтесь в магазин № 5 «Техническая книга» по адресу: 191040 Ленинград, Пушкинская ул., 2.

Книги могут быть высланы наложенным платежом.

**Фоули Р.** Еще один уникальный вид. Экологические аспекты эволюции человека: Пер. с англ. – 23 л. 2 р. 50 к.

В книге английского автора рассмотрены экологические аспекты проблемы происхождения человека. Проведен анализ тех экологических факторов, которые определили направление естественного отбора среди древних гоминид и их эволюцию. Книга написана строго научно, но легко и доступно; благодаря оригинальному подходу она не дублирует имеющихся изданий по палеоантропологии.

**Содержание.** Краткий обзор эволюции человека. Основные принципы эволюционной экологии. Пути в прошлое (анализ методических подходов). Способы адаптации гоминид – как тропических животных; как крупных млекопитающих; как приматов, ведущих наземный образ жизни. Влияние климатических условий и межвидовой конкуренции. Проблемы миграции древних гоминид.

Для студентов и специалистов в области антропологии, эволюционной биологии, зоологии, а также всех интересующихся проблемой происхождения человека.









2р.60к.

ΣΥΝΟΠΤΙΚΟΝ  
ΤΗΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ  
ΤΗΣ

ΦΙΛΟΣΟΦΙΑΣ  
ΤΗΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ  
ΤΗΣ

